



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Evaluación de la actividad antioxidante y
antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera
indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por
tetracloruro de carbono**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Toxicología

AUTOR

Jahaira del Rosario BAZALAR PALACIOS

ASESOR

Gladys Constanza ARIAS ARROYO

Lima, Perú

2018



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
UNIDAD DE POSGRADO



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN TOXICOLOGÍA**

Siendo las **10:00 hrs. del 24 de agosto de 2018** se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Examinador y Calificador de tesis, presidido por el Dr. Mesías Moisés García Ortiz e integrado por los siguientes miembros: Dra. Gladys Constanza Arias Arroyo (Asesora), Dr. José Alfonso Apesteguía Infantes, Mg. Luis Alberto Inostroza Ruiz y la Mg. Tania Torres Aguilar; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"Evaluación de la actividad antioxidante y antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono"**, presentada por la Bachiller en Farmacia y Bioquímica **JAHAIRA DEL ROSARIO BAZALAR PALACIOS**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Toxicología**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por la graduando.

A continuación el Jurado Examinador y Calificador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

Diecisiete (17)

Luego, el Presidente del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue a la Bachiller en Farmacia y Bioquímica **JAHAIRA DEL ROSARIO BAZALAR PALACIOS**, el Grado Académico de Magíster en **Toxicología**.

Siendo las *11:50* hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las *12:20* hrs. del 24 de agosto de 2018.

[Firma]
Dr. Mesías Moisés García Ortiz (P.P., T.C.)
Presidente

[Firma]
Dra. Gladys Constanza Arias Arroyo (P.P., T.C.)
Miembro - Asesora

[Firma]
Dr. José Alfonso Apesteguía Infantes (P. Asoc., T.P.)
Miembro

[Firma]
Mg. Luis Alberto Inostroza Ruiz (P. Aux., T.P.)
Miembro

[Firma]
Mg. Tania Torres Aguilar (P. Aux., T.P.)
Miembro

Observaciones:

DEDICATORIA

A Dios que me dio la vida y ha sido mi guía espiritual en todo momento.

El esfuerzo y la dedicación que he puesto en esta tesis, va con mucho amor a Nelida y Jonni mis padres quienes son el principal cimiento de la construcción de mi vida profesional; cuyo afecto y comprensión han sido mi inspiración; depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi inteligencia y capacidad; con esa voz inolvidable “sígue, tú puedes”.

A Saori y Starlyn mis hermanos quienes han sido mi aliciente; sentaron en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación, en ustedes tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarlos cada día más.

A ti Harold mi querido esposo; tu amor, comprensión y apoyo ha sido fundamental; acompañándome en cada decisión que tomara, incluso en los momentos y situaciones más complicadas, y brindarme el tiempo necesario para seguir realizándome profesionalmente.

A mi mamá chela por su amor infinito y a mis abuelitos Santiago, Josefina y Zacarías desde el cielo sé que se sienten muy orgullosos de mí.

Gracias.

Jahaira

AGRADECIMIENTOS

A mi alma máter, la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por acogerme y brindarme formación profesional, ética y moral para darme paso a un mundo lleno de oportunidades.

Al Mg. Luis Alberto Inostroza Ruiz, por compartir no sólo conocimiento científico, sino lecciones, experiencias y por los valiosos aportes en la ejecución de la investigación para formarme como una gran profesional.

A mi asesora Dra. Gladys Arias Arroyo, por incentivar el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Marlene Flores Peralta, por los valiosos aportes en el estudio histopatológico.

Muchas gracias, por contribuir con esta meta.

ÍNDICE GENERAL

LISTA DE TABLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	Vii
RESUMEN	X
SUMMARY	Xi
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	
1.1 Situación problemática	1
1.2 Formulación del problema	3
1.4 Justificación teórica	3
1.5 Justificación práctica	4
1.6 Objetivos	6
1.6.1 Objetivo general	6
1.6.2 Objetivos específicos	6
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	
2.1 Marco filosófico o epistemológico de la investigación	7
2.2 Antecedentes de investigación	9
2.3 Bases teóricas	14
2.3.1 Mango	14
2.3.1.1 Valor nutricional	14
2.3.1.2 Aspectos agroindustriales	16
2.3.2 Radicales libres	17
2.3.3 Antioxidantes	19
2.3.4 Silimarina	20
2.3.5 Tetracloruro de carbono	21
2.3.5.1 Mecanismo de acción	22
2.3.6 Toxicidad hepática	24
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA	
3.1 Tipo y diseño de investigación	28
3.2 Unidad de análisis	28

3.3 Población de estudio	28
3.4 Tamaño de muestra	28
3.5 Materiales, reactivos y equipos	28
3.5.1 Material biológico	28
3.5.2 Material farmacológico y tóxico	29
3.5.3 Materiales de laboratorio	29
3.5.4 Equipos	29
3.5.5 Reactivos	29
3.6 Procedimiento	30
3.6.1 Selección de muestra	30
3.6.2 Preparación de la mezcla de tetracloruro de carbono	30
3.6.3 Preparación de la solución de silimarina	30
3.6.4 Preparación de la pulpa de mango (<i>Mangifera indica</i> L.)	30
3.6.5 Inducción de la lesión hepática con tetracloruro de carbono	32
3.6.6 Actividad antioxidante	34
3.6.7 Evaluación de la actividad antihepatotóxica en ratas	35
3.6.7.1 Obtención de las muestras	35
3.6.7.2 Perfil hepático	35
3.6.7.3 Estudio histopatológico	35
3.7 Análisis e interpretación de la información	35
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Pruebas de hipótesis	36
4.2 Presentación de resultados	36
4.3 Análisis, interpretación y discusión de resultados	45
CONCLUSIONES	54
RECOMENDACIONES	55
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
ANEXOS	69

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Actividad antioxidante de la pulpa de mango (<i>Mangifera indica</i> L.) expresado en mM de Trolox Eq./g de pulpa.	36
Tabla 2. Evaluación del perfil hepático postratamiento para cada grupo experimental de ratas albinas machos - <i>Rattus norvegicus</i> con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono y grupos control negativo y positivo.	37
Tabla 3. Comparación de los parámetros hepáticos entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl ₄), GIII (CCl ₄ + <i>Mangifera indica</i> L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl ₄ + <i>Mangifera indica</i> L. 2,0 g/kg) y GV (CCl ₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - <i>Rattus norvegicus</i> con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. La cadena de transporte de electrones mitocondrial es considerada la mayor fuente de formación de radicales libre.	18
Figura 2. Metabolismo del tetracloruro de carbono.	21
Figura 3. Esquema de alteraciones causadas por tetracloruro de carbono.	23
Figura 4. Flujo de operaciones para la cuantificación de la actividad antioxidante a partir del mango (<i>Mangifera indica</i> L.)	31
Figura 5. Flujograma de inducción de lesión hepática y evaluación de la actividad antihepatotóxica de la pulpa de mango (<i>Mangifera indica</i> L.)	33
Figura 6. Comparación del promedio de la concentración de Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO) expresados en (U/L) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl ₄), GIII (CCl ₄ + <i>Mangifera indica</i> L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl ₄ + <i>Mangifera indica</i> L. 2,0 g/kg) y GV (CCl ₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas albinas machos - <i>Rattus norvegicus</i> con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.	38
Figura 7. Comparación del promedio de la concentración de Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP) expresados (U/L) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl ₄), GIII (CCl ₄ + <i>Mangifera indica</i> L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl ₄ + <i>Mangifera indica</i> L. 2,0 g/kg) y GV (CCl ₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - <i>Rattus norvegicus</i> con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.	38
Figura 8. Comparación del promedio de la concentración de Proteínas Totales (TP) expresados (g/dL) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl ₄), GIII (CCl ₄ + <i>Mangifera indica</i> L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl ₄ + <i>Mangifera indica</i> L. 2,0 g/kg) y GV (CCl ₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - <i>Rattus norvegicus</i> con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.	39

Figura 9. Comparación del promedio de la concentración de Albumina (ALB) expresados (g/dL) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono. 39

Figura 10. Comparación del promedio de la concentración de Globulina (GLOB) expresados (g/dL) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono. 40

Figura 11. Comparación del promedio de la concentración de Fosfatasa Alcalina (FAL) expresados (U/L) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono. 40

Figura 12. Tejido hepático con parénquima normal GI: control negativo (H&E, 40x). 41

Figura 13A. Tejido hepático con estructuras dañadas. El Hepatocito presenta lípidos en el citoplasma (esteatosis macrovesicular), el núcleo es rechazado hacia el exterior, presencia de células de Kupffer, espacios sinusoidales dilatados. GII: control positivo (H&E, 40x). 42

Figura 13B. Tejido hepático con colestasis (pigmento biliar intracitoplasmática), GII: Control positivo (H&E, 40x). 42

Figura 13C. Tejido hepático muestran esteatosis microvesicular (burbujas de jabón). GII: Control positivo (H&E, 40x). 43

Figura 13D. Tejido hepático muestran inflamación crónica, espacio portal dilatado con congestión vascular – edema. GII: Control positivo (H&E, 40x). 43

Figura 14. Tejido hepático muestran leve congestión vascular de vena centro lobulillar, escasos focos de esteatosis macrovesicular, disminución de células de Kupffer y leve congestión vascular de vena centrolobulillar.

GIII: CCl₄ + pulpa de mango 1,0 g/kg (H&E, 40x).

Figura 15. Tejido hepático muestra parénquima sin congestión vascular, ni esteatosis macro y microvesicular, escasas células de Kupffer.

GIV: CCl₄ + pulpa de mango 2,0 g/kg (H&E, 40x).

Figura 16. Tejido hepático presenta escasos linfocitos, disminución del infiltrado inflamatorio crónico, edema, congestión vascular y esteatosis.

GV: CCl₄ + silimarina 100 mg/kg (H&E, 40x).

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antioxidante y antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono. La actividad antioxidante se determinó por el método DPPH; para evaluar la actividad antihepatotóxica se determinaron en suero niveles de transaminasa glutámico oxalacética (TGO), transaminasa glutámico pirúvica (TGP), fosfatasa alcalina (FAL), proteína totales (PT), albumina y globulina, y se realizaron estudios histopatológicos del hígado. La hepatotoxicidad aguda se indujo por administración en dosis oral única con 0,4 mL CCl₄/kg en ratas. Se emplearon 30 especímenes de *Rattus norvegicus* machos, distribuidos aleatoriamente en 5 grupos (n = 6); siendo GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg). Para el análisis estadístico del perfil hepático se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, con una significancia $p < 0,01$. La actividad antioxidante de *Mangifera indica* L. equivalente al trolox fue de $23,7 \pm 2,3$ mM/g de pulpa. En la comparación de los parámetros hepáticos entre grupos I, II, III, IV y V de significancia fueron TGO ($p < 0,000$), TGP ($p < 0,000$), PT ($p < 0,000$), Albumina ($p < 0,004$), Globulina ($p < 0,001$) y FAL ($p < 0,000$). Así mismo, la pulpa de mango mejoró la lesión del tejido hepático inducida por CCl₄. Presenta actividad antihepatotóxica la pulpa de *Mangifera indica* L. sobre la lesión hepática inducida por CCl₄ en ratas debido a su elevada actividad antioxidante. El postratamiento con pulpa de *Mangifera indica* L. después de la administración de CCl₄ disminuyó significativamente los niveles aumentos en las actividades enzimáticas séricas de (TGO, TGP y FAL), PT, Albumina y Globulina similar al tratamiento con silimarina. Los cambios histopatológicos inducidos por CCl₄ también se atenuaron mediante el tratamiento con *Mangifera indica* L. no existiendo diferencia significativa con el tratamiento con silimarina.

Palabras clave: mango (*Mangifera indica* L.), tetracloruro de carbono, hepatotoxicidad, antihepatotóxico, actividad antioxidante, radicales libres.

SUMMARY

The objective of the present investigation was to evaluate the antioxidant and antihepatotoxic activity of the mango pulp (*Mangifera indica* L.) in rats with hepatic toxicity induced by carbon tetrachloride. The antioxidant activity was determined by the DPPH method; to evaluate the antihepatotoxic activity, serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT), glutamic pyruvic transaminase (TGP), alkaline phosphatase (FAL), total protein (PT), albumin and globulin were determined and histopathological liver studies were performed. Acute hepatotoxicity was induced by administration at a single oral dose with 0,4 mL CCl₄/kg in rats. We used 30 specimens of *Rattus norvegicus* males, randomly distributed in 5 groups (n = 6); being GI (negative control: olive oil 1,0 mL/kg), GII (positive control: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) and GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) and GV (CCl₄ + silymarin 100 mg/kg). For the statistical analysis of the liver profile, the non-parametric Kruskal-Wallis test was applied, with a significance of $p < 0,01$. The antioxidant activity of *Mangifera indica* L. equivalent to trolox was $23,7 \pm 2,3$ mM/g of pulp. In the comparison of hepatic parameters between groups I, II, III, IV and V of significance were TGO ($p < 0,000$), TGP ($p < 0,000$), PT ($p < 0,000$), Albumin ($p < 0,004$), Globulin ($p < 0,001$) and FAL ($p < 0,000$). Likewise, the mango pulp improved the hepatic tissue injury induced by CCl₄. The pulp of *Mangifera indica* L. shows anti-hepatotoxic activity on the hepatic lesion induced by CCl₄ in rats due to its high antioxidant activity. Post-treatment with pulp of *Mangifera indica* L. after administration of CCl₄ significantly decreased the levels increases in the serum enzymatic activities of (TGO, TGP and FAL), PT, Albumin and Globulin similar to the treatment with silymarin. Histopathological changes induced by CCl₄ were also attenuated by treatment with *Mangifera indica* L. There was no significant difference with treatment with silymarin.

Key words: mango (*Mangifera indica* L.), carbon tetrachloride, hepatotoxicity, antihepatotoxic, antioxidant activity and free radicals

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

1.1. Situación problemática

La exposición a disolventes orgánicos se convierte en un riesgo para la salud, la productividad y la eficiencia de los trabajadores debido a que los solventes orgánicos son muy volátiles a temperatura y presión ambiental, liposolubles y una vez que ingresan al organismo, sufren diferentes reacciones metabólicas y muchos de sus metabolitos son altamente reactivos y nocivos para el organismo del trabajador expuesto, produciendo una serie de patologías como: neurotoxicidad, hepatotoxicidad, daños al sistema respiratorio, riñones, y a la piel, habiendo sido asociado en estudios de investigación a la ocurrencia de cáncer.

En el 2010, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha hecho énfasis sobre la exposición a sustancias químicas en los lugares de trabajo, las enfermedades y accidentes resultantes de esta situación (Organización Mundial de la Salud, 2010): Entre la gran cantidad de productos químicos utilizados en el mundo, los solventes orgánicos ocupan un papel relevante, ya que son compuestos con múltiples usos industriales y representan un factor de riesgo para los trabajadores que laboran con ellos, como son: los pintores, fabricantes del calzado, entre otros; están expuestos a sustancias nocivas como los solventes puros, a mezclas complejas como el diluyente, o a pinturas elaboradas

con pigmentos que contienen solventes como el benceno, el tolueno y el tetracloruro de carbono.

En Bogotá se realizó un estudio de 157 sujetos, se evaluaron los efectos de los solventes orgánicos en el sistema nervioso de trabajadores expuestos; la evaluación neurológica y conductual reveló que las principales diferencias entre los grupos de estudio se registraron en los procesos de atención, percepción o codificación y memoria (Sgro et al., 2002; Vitali, Ensabella, Stella, & Guidotti, 2006).

En otro estudio en el que participaron 33 trabajadores expuestos a solventes orgánicos y 28 individuos no expuestos, se determinó que el 3,3 % de los trabajadores expuestos presentaron concentraciones de fenol por encima de los valores de referencia, y en una de las empresas participantes se encontraron concentraciones de benceno en el aire por encima de los límites aceptados (Williams, 1996).

En Perú, son pocos los estudios que nos ayudan a visualizar la magnitud de este problema. Uno de ellos menciona que dentro de las enfermedades digestivas causadas por la exposición a solventes, la cirrosis hepática es la primera causa de muerte en el Perú con una tasa de mortalidad entre 6,53 - 10,56/100 000 habitantes (Farfán & Cabezas, 2002). Así mismo, la Dirección General de Epidemiología estima que en el Perú existen 2 000 millones de personas infectadas por el virus de la hepatitis B, y entre 130 a 170 millones de personas presentan hepatitis C (Turpo, 2012).

En la mayoría de los casos, no existe un tratamiento eficaz para la toxicidad hepática inducida por xenobióticos. (M. Singh et al., 2012). Por lo que es mejor la prevención de la exposición a solventes orgánicos en el trabajo e inclusive en el hogar.

En la actualidad se ha demostrado la eficiencia terapéutica del alto consumo de frutas y verduras; y una menor incidencia de enfermedades degenerativas (Kaur & Kapoor, 2008) como una medida de prevención al contenido de antioxidante.

1.2. Formulación del problema

¿Tendrá la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) actividad antioxidante y antihepatotóxica en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono?

1.3. Justificación teórica

Como es conocido, el efecto hepatotóxico del tetracloruro de carbono (CCl_4) está mediado por la formación de radicales libres (Halliwell & Gutteridge, 1989). El hígado es uno de los órganos más afectados por reacciones de oxidación debido a la importancia que tiene el metabolismo en el origen de estos radicales libres (Selema de la Morena & Martínez Pérez, 1999).

Proteger al hígado de los efectos nocivos de hepatotoxinas que el hombre puede ingerir o contrarrestar las alteraciones en los mecanismos de defensa antirradicalarios, es de suma importancia y los agentes que son capaces de hacerlo son llamados hepatoprotectores (Morena & Martínez, 1999). Por lo tanto, ciertas cantidades de antioxidantes exógenos se requieren constantemente para mantener un nivel adecuado de antioxidantes y equilibrar las especies reactivas de oxígeno (Finkel, 1998).

Actualmente el 25 % de los fármacos existentes tienen una extracción vegetal a partir de sustancias halladas en la investigación (Villar &

Villavicencio, 2001), las plantas que contienen una gran variedad de compuestos químicos, como, fenoles, cumarinas, lignanos, aceites esenciales, monoterpenos, glucósidos, alcaloides, carotenoides, flavonoides, ácidos orgánicos y xantinas (Olaleye, Adegboye, & Akindahunsi, 2006), contribuyen a combatir una serie de problemas de salud.

Mangifera indica L. comúnmente llamado mango es un cultivo frutícola cultivado ampliamente en las zonas del norte del Perú. El mango es uno de los más populares de todas las frutas tropicales. La mangiferina, al ser un antioxidante polifenólico y una glucosil xantona, posee un fuerte antioxidante, peroxidasa anti lipídico, inmunomodulador, cardiotónico, hipotensor, cicatrizante, antidegenerativo y antidiabético (Muruganandan, Srinivasan, Gupta, Gupta, & Lal, 2005; Ojewole, 2005) , (Ogbe, Adoga, & Abu, 2010). Todos estos usos y propiedades importantes indican que se atribuyen a sus constituyentes fitoquímicos, pudiendo tener antihepatotóxico.

Por esos motivos, surge en ello utilizar productos que en su composición inherente contienen antioxidantes y debido a la costo-efectividad, por ser un producto natural y accesible, se propuso: Evaluar la actividad antioxidante y antihepatotóxica de la pulpa mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono. Así mismo esta investigación será un gran aporte a la ciencia para combatir problemas de salud relacionados con el hígado.

1.4. Justificación práctica

Las enfermedades hepáticas son un serio problema de salud. La carencia de un tratamiento efectivo en la medicina moderna hace que

se aumenten los esfuerzos por hallar drogas apropiadas. El estudio de agentes de origen natural que disminuyan el daño hepático inducido por sustancias químicas, ha despertado un interés especial (Kujawska et al., 2007).

Las reacciones de oxidación son esenciales en los procesos metabólicos celulares. Dichas reacciones involucran la transferencia de electrones que producen radicales libres (RL) (Sohal, 1993). Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que neutralicen los RL. A estas defensas se les denomina antioxidantes y se considera como tal a cualquier sustancia que en concentraciones normales posea una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interactuar con un RL (C. Rodríguez et al., 1994; Turnes, 1994)

La alimentación es de vital importancia para proveer de antioxidantes nuestro organismo, especialmente cuando las condiciones de vida del individuo han disminuido el potencial de sus sistemas de defensas (Setchell, 1998). El consumo de frutas no es simplemente una consecuencia de gustos y preferencias personales, en la actualidad ayuda a solucionar problemas de salud debido al contenido de nutrientes. Las frutas presentan compuestos antioxidantes, micronutrientes, minerales, fibras, vitaminas y compuestos fenólicos secundarios. (Arrazola, Rojanoo & Díaz, 2013; Vasco, Ruales, & Kamal-Eldin, 2008).

El mango es una fruta considerada buena fuente de antioxidantes, debido a la presencia de ácido ascórbico, carotenoides y compuestos fenólicos (Corrales-Bernal, Urango, Rojano, & Maldonado, 2014). El consumo de estos antioxidantes ayuda a mejorar los daños en el cuerpo causados por radicales libres, que pueden contribuir a una diversidad de problemas de salud, incluyendo el cáncer, la diabetes,

enfermedad cardiovascular, entre otras (Ajila, Naidu, Bhat & Rao, 2007).

Identificar su efecto antihepatotóxico del mango, beneficiará a la población usuaria que podría utilizar como herramienta preventiva y/o alternativa hacia patologías del mismo contexto.

1.5. Objetivos

1.6.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante y antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

1.6.2 Objetivos específicos

1. Determinar la actividad antioxidante de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.), por el método de captación del radical 2,2-difenilpicrilhidrazil (DPPH).
2. Evaluar los marcadores enzimáticos (transaminasa glutámico oxalacética, transaminasa glutámico pirúvica y fosfatasa alcalina), proteínas totales, albumina y globulina postratamiento con pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.
3. Evaluar el grado de las lesiones hepáticas de *Rattus norvegicus* ocasionados por tetracloruro de carbono después del tratamiento con 1,0 y 2,0 g/kg de pulpa de mango (*Mangifera indica* L.), mediante un estudio histopatológico.

CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO

2.1. Marco filosófico o epistemológico de la investigación

La presente investigación se toma en cuenta el paradigma positivista y/o paradigma cuantitativo, empírico analítico racionalista. Por qué trata de predecir lo que sucederá, para luego ser verificado, basándonos por las leyes que permitan explicar, predecir y controlar los fenómenos del mundo natural y puede ser descubiertas y descritas por los investigadores con métodos adecuados, ya que se basa en la experiencia y es válido para todos los tiempos y lugares, con independencia de quien lo descubre.

También se considera el falsacionismo de Karl Popper, porque permite falsar sucesivas teorías y/o hipótesis con la finalidad de acercarse cada vez más a lo que es.

El daño hepático inducido por drogas es la causa más común de muerte por fallo hepático agudo y representa alrededor del 10 % de casos de fallo hepático agudo a nivel mundial. La hepatotoxicidad por medicamentos es la principal reacción adversa implicada en el abandono del desarrollo de futuros medicamentos en la fase preclínica o clínica (Tejada, 2005).

La incidencia de hepatotoxicidad está aumentando de forma paralela a la introducción de nuevos agentes en el mercado, lo cual implica inclusive a que las personas tiendan a la polimedicación y al uso cada vez más extendido de productos herbales (Larrey, 2000).

En condiciones fisiológicas normales, las células son capaces de contrarrestar la producción de especies reactivas de oxígeno con antioxidantes endógenos del organismo humano. Cuando el equilibrio redox se desplaza a favor de oxidantes celulares, daño oxidativo a ácidos nucleicos, lípidos o proteínas pueden dar como resultado y producir modificaciones en función celular y viabilidad celular (Klaunig & Kamendulis, 2004).

Las células hepáticas como todas las del organismo humano necesitan de una fuente exógena que aportan antioxidantes para evitar el estrés oxidativo celular y mantener el equilibrio redox en las células (Klaunig & Kamendulis, 2004).

La porción comestible del mango contiene ácido ascórbico, carotenoides, polifenoles, terpenoides que poseen efectos protectores para la salud (Corrales-Bernal et al., 2014). Estos compuestos bioactivos ejercen funciones protectoras para las células de nuestro organismo estabilizando a las especies reactivas de oxígeno, y tal es el caso del hígado; por ejemplo, detoxificación con la bilirrubina, en la síntesis de proteínas plasmáticas como la albumina y la integridad de los hepatocitos sin la correspondiente liberación de enzimas como las transaminasas (Corrales-Bernal et al., 2014).

Por lo que, en este trabajo, se evaluó la actividad antioxidante y el antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.). Frente a

un proceso de hepatotoxicidad inducida por CCL₄ en ratas albinas machos – *Rattus norvegicus*.

2.2. Antecedentes de investigación

Fahmy, Amien, Abd-Elgleel, & Elaskalany, (2016). Evaluaron el posible papel protector de los polisacáridos extraídos del mango egipcio *Mangifera indica* L. frente a la silimarina en ratas con toxicidad inducida por ciclofosfamida. *Mangifera indica* L. y silimarina disminuyeron los niveles en suero de aspartato aminotransferasa (ASAT) y alanina aminotransferasa (ALAT). *Mangifera indica* L. en una concentración de 1 000 mg/kg regularizó los niveles de ASAT y ALAT registrando 28,75 y 78,75 U/mL respectivamente. Los datos registrados también mostraron el efecto antioxidante de *Mangifera indica* L. al reducir el nivel de malondialdehído (MDA) y aumentar el nivel de glutatión reducido (GSH), así como también normalizaron las actividades de las enzimas antioxidantes como: glutatión S-transferasa, superóxido dismutasa y la catalasa. Los análisis histopatológicos confirmaron la eficacia protectora de *Mangifera indica* L. contra la toxicidad hepática de ciclofosfamida. Los hallazgos de este estudio respaldan la función protectora de *Mangifera indica* L. comparándolos con silimarina en el daño hepático inducido por ciclofosfamida.

Gil, (2015). Determinó las propiedades quimiopreventivas y terapéuticas del mango de azúcar (*Mangifera indica* L.) y de la curuba larga (*Passiflora molissima*) en el cáncer de colon. El estudio consta de cuatro grupos experimentales, utilizando 82 ratones (*Mus musculus*). Los grupos 1 y 2, recibieron tres tratamientos mediante una bebida en concentraciones variables de extracto de curuba larga y mango de azúcar durante 10 semanas. En la semana 4 y 5, se indujo

el daño de cáncer colorectal inducido por Azoximetano. Posteriormente, los ratones fueron sacrificados para obtener las muestras de colon. Y se demostró que el consumo repetido de azúcar mango y de curuba larga en ratones, disminuye la expresión de lesiones preneoplásicas y modifica la producción de mucinas en el epitelio colónico.

Corrales-Bernal et al., (2014). Evaluaron la actividad antiproliferativa en el adenocarcinoma de colon y las células preventivas en un modelo *in vivo* de cáncer de colon (CCO) a partir de un extracto acuoso de *Mangifera indica* cv. Azúcar. La carcinogénesis en el colon de ratones fue inducida con dos inyecciones intraperitoneales de azoximetano (AOM) en la tercera y cuarta semana después del inicio del suministro del extracto acuoso de mango, después de 10 semanas de tratamiento, se observó más del 60 % de inhibición de focos de criptas aberrantes ($p = 0,05$) en comparación con los controles que recibieron agua. Sus resultados demostraron que la pulpa de mango de azúcar, es un alimento natural no tóxico que forma parte de la dieta del ser humano, y contiene compuestos bioactivos capaces de reducir el crecimiento de las células tumorales y prevenir la aparición de lesiones precancerosas en el colon durante el inicio de la carcinogénesis.

Arrazola et al., (2013). Determinaron la actividad antioxidante de los extractos de cinco cultivares de mango (Corazón, Paloma, Magdalena River, Canela y Jobo) fue estudiada mediante la determinación del contenido de β -caroteno, fenoles, ácido ascórbico y la capacidad captadora de radicales libres, 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH). Además, se evaluó la actividad antioxidante de los cultivares en una matriz lipídica, en comparación con un antioxidante comercial butilhidroxianisol (BHA). El IC_{50} de la capacidad captadora de radicales libres para variedad Jobo fue de 0,776 ($mg\ mL^{-1}$) el mejor resultado

aplicando modelo de regresión simple ($R^2 = 99,58$); esta variedad presentó mayor actividad antioxidante con concentración de extracto $70,35 \text{ mg L}^{-1}$, resultado verificado con un contenido de fenol de $208\,804 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido gálico. Además, 'Jobo' presentó la mayor concentración de ácido ascórbico con $9\,730,07 \text{ mg kg}^{-1}$, mientras que la variedad Magdalena River mostró el más alto porcentaje de inhibición de decoloración de β -caroteno ($46,53 \%$). Con 'Jobo' se obtuvo el mejor comportamiento en la matriz alimentaria usando $1\,000 \text{ mg kg}^{-1}$ de extracto logrando el mismo efecto del BHA por encima de la concentración permitida (175 mg kg^{-1}).

Palafox-Carlos, Yahia, & González-Aguilar, (2012). Se calculó la identificación individual y la contribución antioxidante de fenoles durante la maduración de la fruta del mango. Se realizó un análisis cualitativo y cuantitativo en cuatro etapas de madurez de los compuestos fenólicos de la pulpa de mango 'Ataulfo', utilizando cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas. Los principales compuestos identificados fueron ácido clorogénico (28 a 301 mg/100 g), ácido gálico $94,6$ a $98,7 \text{ mg/100 g}$), ácido vanílico ($16,9$ a $24,4 \text{ mg/100 g}$), y ácido protocatéquico ($0,48$ a $1,1 \text{ mg/100 g}$). La contribución antioxidante de los cuatro ácidos fenólicos aumentó durante la maduración. El ácido gálico representó la mayor contribución (39%), seguido por el ácido clorogénico (21%). Se determinó, que los compuestos fenólicos pueden tener un papel importante en el metabolismo antioxidante en el mango 'Ataulfo' durante la maduración.

(Ma et al., 2011). Evaluaron la actividad antioxidante de 8 genotipos de mango mediante diversas pruebas bioquímicas: 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH), ácido 2,2-azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS), capacidad de absorción de radicales de oxígeno

(ORAC), poder antioxidante de la reducción del ion férrico (FRAP), actividad captadora de radicales superóxido (SASR), capacidad quelante de metal, composición de polifenoles y contenido de vitamina C. Estas pruebas bioquímicas demostraron que la capacidad antioxidante de Tainong es significativamente mayor que la de otros genotipos teniendo como resultados polifenoles totales 193,36 mg ácido gálico/100 g peso fresco, flavonoides totales 90,92 mg rutina/100 g peso fresco, vitamina C 20,63 mg ácido ascórbico/100 g peso fresco, la actividad de eliminación de radicales libres determinada por DPPH $2\,930 \pm 18 \mu\text{M}$ Trolox. El contenido de polifenoles totales y flavonoides totales demostraron que son los principales contribuyentes de la actividad antioxidante del mango.

(Manthey & Perkins-Veazie, 2009). Evaluaron cinco variedades de mangos de cuatro países con múltiples cosechas de un periodo mayor a 1 año para comparar β -carotenos, ácido ascórbico, contenidos fenólicos totales y capacidad antioxidante de la pulpa del fruto. Obteniendo como resultado que el ácido ascórbico varió de 11 a 134 mg/100 g de puré de pulpa, y β -caroteno varió de 5 a 30 mg/kg entre las cinco variedades. Contenido de fenoles totales varió de 19,5 a 166,7 mg de equivalentes de ácido gálico/100 g de puré. Las variedades Tommy Atkins, Kent, Keitt y Haden tenían contenidos fenólicos totales similares, con un promedio de $31,2 \pm 7,8$ mg ácido gálico/100 g de puré, mientras que la variedad Ataulfo contenía valores más altos. Se concluye que el mango Ataulfo contiene cantidades mayores de manguiferina y ácido elágico que las otras cuatro variedades.

Ajila et al., (2007). Determinaron la actividad antioxidante, contenidos de polifenol, antocianina y carotenoide de los extractos cetónicos de cáscara de mango. Las cáscaras maduras contenían una mayor

cantidad de antocianinas y carotenoides, mientras que la cáscara de mango verde tenía un alto contenido de polifenoles. La actividad antioxidante de las cáscaras de mango maduras y verdes extraídas en acetona se determinó usando diferentes sistemas antioxidantes tales como potencial reductor férrico (FRP), actividad captadora de radicales libres DPPH, peroxidación lipídica microsomal hepática e inhibición de lipoxigenasa de soja. Se encontró que los valores de IC₅₀ estaban en el rango de 1,39 – 5,24 µg de equivalentes de ácido gálico. Por lo tanto, el extracto de cáscara de mango exhibió una buena actividad antioxidante en diferentes sistemas y, por lo tanto, se puede utilizar en alimentos nutraceuticos y funcionales.

(S. Rocha, Queiroz, Lopes, Campos, & Pinheiro, 2007). Investigaron la composición de la pulpa de cuatro cultivares de mango (Haden, Tommy Atkins y Ubá) en la etapa de maduración en relación con tres componentes con potencial antioxidante (fenoles totales, carotenoides y ácido ascórbico). El contenido de compuesto fenólico total se evaluó mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu y el contenido total de carotenoides por espectrofotometría a 450 nm. Los contenidos de β-caroteno y vitamina C total se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución. Encontrase que el contenido de compuestos fenólicos varió de 48,40 (Haden) a 208,70 mg/100 g (Ubá); carotenoide total de 1,91 (Haden) a 2,63 mg/100 g (Palmer); β-caroteno desde 661,27 (Palmer) a 2,220 µg/100 g (Ubá) y el ácido ascórbico. Estos resultados corroboraron información previa de *Mangifera indica* L. demostrando ser una buena fuente de antioxidantes en la dieta humana.

(Kuskoski, García, Troncoso, & Fett, 2006). Determinaron la capacidad antioxidante de pulpa de frutas comerciales congeladas. Analizando pulpas de mora, uva, asaí, guayaba, frutilla, acerola, piña,

mango, graviola, cupuassu y maracuyá. La actividad antioxidante se determinó por un método *in vitro*: ORAC_{FL} (capacidad de absorbancia del radical oxígeno), la concentración de polifenoles totales, flavonoles totales y de pigmentos antocianinas. Encontró que las pulpas de mango tienen una mayor concentración de fenoles totales (544,9 mg/100 g) mientras que las pulpas de mora y uva una mayor cantidad de antocianinas (41,8 y 30,9 mg/100 g respectivamente). En relación a la capacidad antioxidante, en orden decreciente de la actividad están: acerola > fresa > mango > uva > asaí > graviola > guayaba > cupuassu > maracuyá > piña > mora.

2.3. Bases teóricas

2.3.1. Mango:

Mango (*Mangifera indica* L.), es un fruto considerado alimento funcional por el alto contenido de compuestos bioactivos como ácido ascórbico, carotenoides, polifenoles, terpenoides, y fibra; aunque pueden variar en cantidad de acuerdo al genotipo, parte del fruto, estado de madurez y prácticas agrícolas. La presencia de estos compuestos en el mango lo postula como un alimento con potencial quimiopreventivo (Corrales-Bernal et al., 2014).

2.3.1.1 Valor nutricional. La pulpa (MP) y cáscara (MC) de *Mangifera indica* L. tienen un elevado porcentaje de humedad (74 - 87 %) (Vilela et al., 2013) y carbohidratos (15 - 23 %) pero escaso contenido de proteínas (0,40 – 0,80) y lípidos (0,3 - 1,0). MP y MC de la variedad Ataulfo contienen ~14 y 8 g/100g de carbohidratos simples (principalmente fructosa) (Olivas-Aguirre, 2014). El contenido de lípidos en base seca es mayor en MP que en MC (~50 % más) lo que justifica sus diferencias en contenido

calórico (102 y 68 kcal/100 g), al menos para el caso del mango Ataulfo (Olivas-Aguirre, 2014).

Vilela y colaboradores reportaron que en extractos lipofílicos pulpa de mango Tommy Atkins y 11 variedades más, las especies predominantes son esteroides glicosilados (45 - 71 %) y ácidos grasos (23 - 42 %), suficiente para aportar 9,5 - 38,2 mg y 0,7 - 3,9 mg de fitoesteroides (libres + glicosilados) y ácidos grasos (ω - 3 y ω - 6) por cada 100 g de mango fresco (Vilela et al., 2013). Recientemente se ha reportado mediante estudios proteómicos que existen varios péptidos traza con una diversidad de funciones para la planta tanto que, de manera diferencial, ocurren en MC algunas proteínas de unión a DNA, transferasas, reguladores de transcripción, transporte y varios reguladores metabólicos y en MP proteínas involucradas en el metabolismo de carbohidratos, función en cloroplastos, peroxidasas y estrés oxidativo y otras que ocurren tanto en MP como MC (ejemplo oxido-reductasas) (Fasoli & Righetti, 2013).

Mangifera indica L. también es una importante fuente de fibra dietaria, siendo esta particularmente soluble en MP (pectinas, almidones) e insoluble en MC (ligninas y hemicelulosa). Aparte de su alto contenido en fructosa, sacarosa y glucosa, MP es reconocida por ser una fuente de heteropolisacáridos de ácido urónico y azúcares neutros (pectinas) para la industria de alimentos en donde comúnmente se usan las pectinas cítricas. Estos polisacáridos varían durante el proceso de maduración de tal forma que, al menos en mango Kent, se presentan cambios en la solubilidad y grado de polimerización de polisacáridos pécticos y hemicelulósicos, siendo arabinosa el principal azúcar neutro es hasta 250 mg/100 g peso fresco. MP y MC también son buenas fuentes

de ramnogalacturonanos (García-Magaña, García, Bello-Pérez, Sáyago-Ayerdi, & De Oca, 2013).

Por último, el mango además se caracteriza por presentar un contenido elevado de vitaminas (Phenol-Explorer, 2015) como: cianidina (0,1 µg/100 g peso fresco), delphinidina (0,02 µg/100 g peso fresco), catequina (1,72 µg/100 g peso fresco), luteolina (0,02 µg/100 g peso fresco), kaempferol (0,01 µg/100 g peso fresco), miricetina (0,03 µg/100 g peso fresco), β-caroteno (445 mcg/100 g peso fresco), α-tocoferol (1,1 mg/100 g peso fresco) y ácido ascórbico (80 mg/10 g peso fresco); y minerales (United States Department of Agriculture, 2015) como: calcio (11 mg), hierro (0,16 mg), magnesio (10 mg), fósforo (14 mg), potasio (168 mg), sodio (1 mg) y zinc (0,09 mg) por 100 g de pulpa de mango.

En particular, el mango en casi todas sus variedades es una fuente rica de ácido ascórbico (AA) y carotenoides totales (CAT) que, aunados a sus compuestos fenólicos, hacen sinergia específica en la CAOX total de cada variedad. Cien gramos de MP es suficiente para cubrir el 146, 69 y 45 % de la ingesta diaria recomendada de ácido ascórbico en mexicanos de 4 - 8, 9 - 18 y 19 - 50 años respectivamente. Sin embargo, existe una gran variabilidad en la composición nutrimental del mango producto de factores edafológicos, climáticos, estado de madurez, variedad y en incluso en la posición de los frutos en un mismo árbol (Mudau, Mabusela, & Wonder, 2014; Wall-Medrano et al., 2015).

2.3.1.2. Aspectos agroindustriales. El mango (*Mangifera indica* L.), originario de Asia, fue introducido al continente americano por los españoles en el siglo XVII. A pesar de no ser un cultivo nativo

del continente americano ha llegado a ocupar un lugar primordial en su producción y consumo (Wall-Medrano et al., 2015). De acuerdo con proyecciones de la FAO, 78 % de los 82 millones de toneladas de frutos tropicales que se producirían en el 2014 serían de mango, piña, palta y papaya, mientras que un 22 % lo serían de otros frutos tales como lichi, rambután y guayaba (Fresh Plaza, 2012). En particular, las exportaciones de mango a nivel mundial alcanzaron los 27 y 38 millones de toneladas en el 2008 y 2011, respectivamente, siendo el segundo producto tropical después del plátano, de mayor producción y popularidad (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005; Robles-Sánchez et al., 2009).

Previendo que este es un fruto climatérico, su manejo postcosecha requiere que este producto sea cortado en estadios tempranos de maduración para lograr su mayor vida de anaquel (Ayala-Zavala, Rosas-Domínguez, Vega-Vega, & González-Aguilar, 2010).

Sobre esto último, se han sugerido diversos métodos para prolongar la vida de anaquel y garantizar el perfil nutrimental y fitoquímico. La aplicación de subproductos (extractos) del mismo mango, tratamientos por inmersión en agua caliente (Robles-Sánchez et al., 2009) o refrigeración (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005), en lo que a concentración y preservación de compuestos bioactivos se refiere (Ayala-Zavala et al., 2010).

2.3.2 Radicales libres (RL)

Radial libre es una especie química que contiene uno o más electrones desapareados en su capa de valencia. La presencia de este tipo de electrones hace que estas especies tengan una gran

reactividad. Se caracterizan por su gran poder oxidante y porque su vida media es generalmente muy corta (Gambini, 2008).

Las reacciones en las que el O_2 participa en general originan radicales libres y moléculas reactivas llamadas especies de reactivas de oxígeno (ROS): anión superóxido, peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo (Konigsberg, 2008). El anión superóxido y el peróxido de hidrógeno son enzimáticamente reducidos por metaloenzimas mitocondrias y las citosólicas (ver Figura 1). Sin embargo, no se dispone de una reducción enzimática del radical libre de hidroxilo, probablemente porque su vida media es muy corta. Este radical reacciona con moléculas que están en el medio ambiente donde se forma o puede reaccionar con moléculas antioxidantes (Maldonado, Jiménez, Bernabé, Ceballos, & Méndez, 2010).

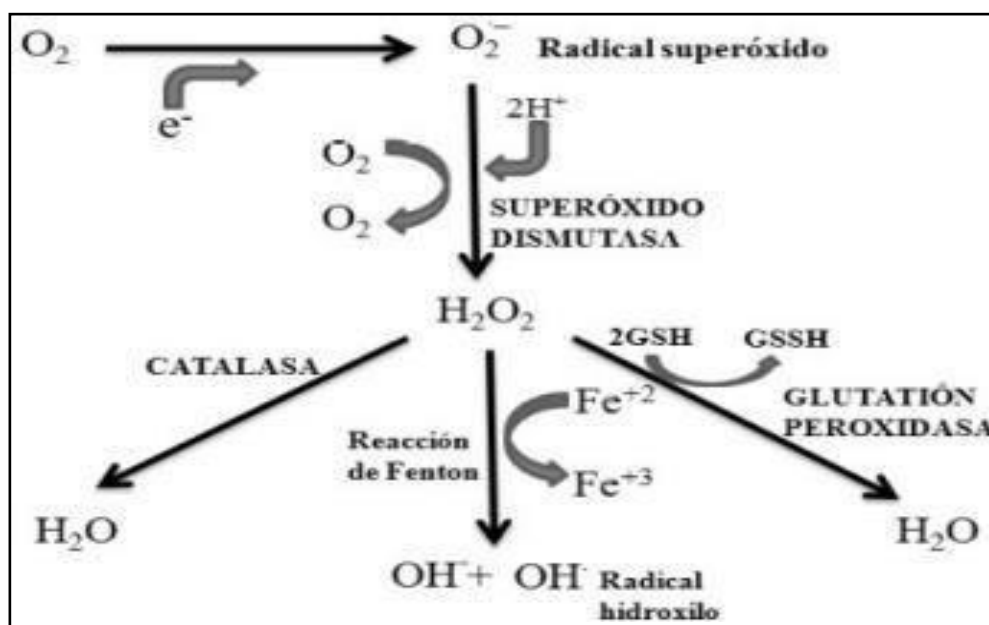


Figura 1. La cadena de transporte de electrones mitocondrial es considerada la mayor fuente de formación de radicales libre. Del total del oxígeno que llega a la mitocondria, del 5 al 10 % se reduce por la acción de los electrones procedentes de los transportadores de la cadena respiratoria que escapan de ésta, la cual es responsable de la formación del anión $O_2^{\cdot -}$, que por acción de la SOD se convierte en H_2O_2 y éste a OH^{\cdot} mediante la reacción de Fenton.

Fuente. (Maldonado et al., 2010).

2.3.3 Antioxidantes

Los antioxidantes son las sustancias químicas con la capacidad de inhibir la oxidación. Muchos de ellos, como el ácido ascórbico, el tocoferol, los carotenoides, los flavonoides y los polifenoles, son bien conocidos por sus beneficios para la inmunidad corporal, el antienviejecimiento, el cuidado de la belleza y pronto. Actualmente, antioxidantes naturales están suscitando amplias atenciones en los círculos de la medicina, la nutrición y la ciencia de la fruta, debido a sus importantes efectos curativos sobre diversas enfermedades causadas por la libre radicales (Li et al., 2014).

Antioxidante a *“cualquier sustancia que, cuando está presente en bajas concentraciones comparado con el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación de este sustrato”* (Klaunig & Kamendulis, 2004). De modo que pueden actuar de las siguientes formas: previniendo la formación de ROS, interceptando el ataque de ROS, secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas, amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de ROS, facilitando la reparación del daño causado por ROS y, por último manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes.

Bajo el punto de vista de la fisiología celular, los podemos dividir en antioxidantes primarios, secundarios y terciarios.

Los antioxidantes primarios previenen la formación de nuevas especies de radicales libres. Estos antioxidantes actúan por conversión de los radicales libres existentes en moléculas menos dañinas, o impidiendo su formación desde otras moléculas. Dentro

de este grupo se incluye a la superóxido dismutasa, la glutatión peroxidasa, la catalasa y las proteínas ligadoras de metales (ferritina y ceruloplasmina) que limitan la disponibilidad de hierro necesario para la formación del radical OH (Katalinic et al., 2013).

Los antioxidantes secundarios son protectores no enzimáticos o captadores de radicales libres que intervienen cuando hay superproducción de radicales libres y los sistemas enzimáticos están desbordados, previniendo así las reacciones en cadena. Se incluye el glutatión, la vitamina E, vitamina C, ácido úrico, bilirrubina y albúmina.

Los antioxidantes terciarios reparan biomoléculas dañadas por los radicales libres (Tsuda, Shiga, Ohshima, Kawakishi, & Osawa, 1996). Entre ellos se encuentran los sistemas proteolíticos intracelulares, que actúan degradando proteínas dañadas oxidativamente, evitando de este modo su acumulación. También podemos destacar las enzimas reparadoras de ADN, la metionina sulfóxido reductasa y la fosfolipasa A₂ que corta los fosfolípidos oxidados de la membrana. Otra forma de clasificar a los antioxidantes, muy utilizada en la literatura, es desde un punto de vista bioquímico. Así, podríamos clasificarlos en antioxidantes enzimáticos y antioxidantes no enzimáticos (Bouayed & Bohn, 2010; Klaunig & Kamendulis, 2004; Tsuda et al., 1996).

2.3.4 Silimarina

Entre los medicamentos a base de hierbas, la silimarina se usa como suplemento dietético para la hepatoprotección durante más de 200 años. La silimarina es un extracto de las semillas de *Silybum marianum*. Las silibinas (isómeros A y B), isosilinas (A y B),

silicristina y silidianina son flavonoides activos presentes en la en el extracto de silimarina. Es segura en modelos animales y no se ha reportado reacciones adversas significativas en estudio con seres humanos. (Saller, Meier, & Brignoli, 2001; Vailati et al., 1993)

2.3.5 Tetracloruro de carbono

El tetracloruro de carbono pertenece al grupo de los hidrocarburos halogenados, es un compuesto relativamente no polar que es ligeramente soluble en agua, soluble en alcohol y acetona, y miscible en benceno, cloroformo y éter (Toxicología Data Network, 2017), y su descomposición térmica produce Fosgeno (Cl_2CO) (ver Figura 2), un organoclorado, no inflamable, antiguamente utilizado como extintor y en la producción de refrigerantes, Se usa como disolvente (aceites, grasas, ceras y limpieza en seco) pero actualmente abandonado debido a su toxicidad.

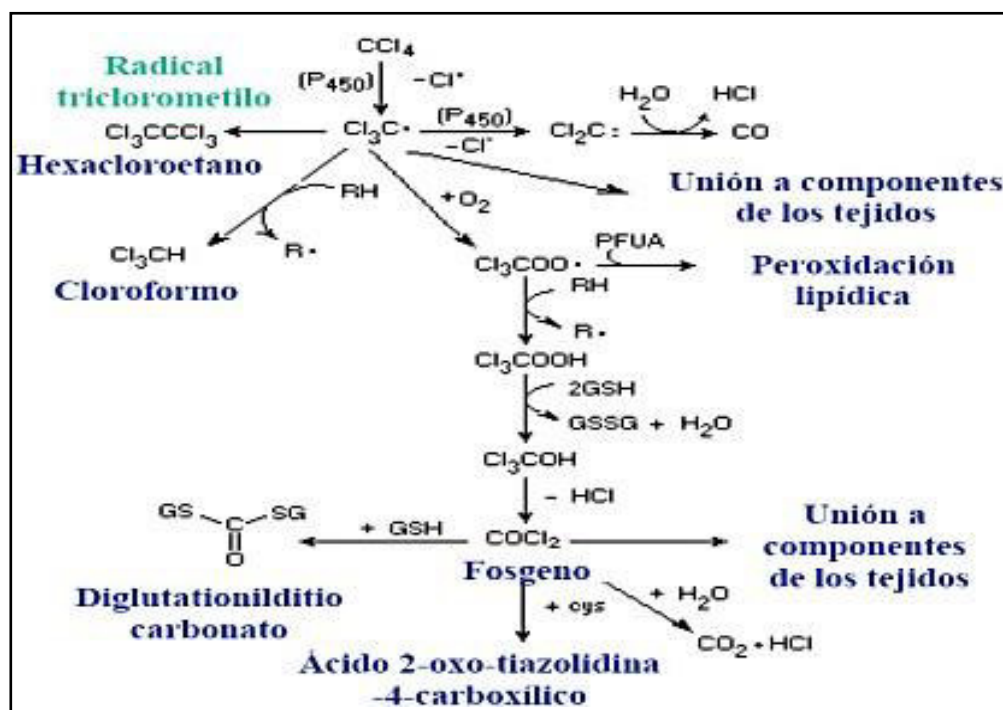


Figura 2. Metabolismo del CCl_4
Fuente. (Khalidi & Zaki, 1969)

Es un líquido incoloro de olor ligeramente dulce, el cual es un tóxico respiratorio. Se difunde fácilmente a través de las membranas plasmáticas (Marquardt, 1999). Su absorción es lenta en el tracto gastrointestinal, se ve favorecida por la presencia de aceites y grasas de origen animal o vegetal, esto se debe a que las sustancias no polares que se disuelven en lípidos difunden con mayor rapidez, ya que, la membrana celular que es permeable, se encuentra constituida principalmente por fosfolípidos, y cuya permeabilidad está determinada por las características fisicoquímicas de las sustancias (Khalidi & Zaki, 1969).

2.3.5.1 Mecanismo de acción. El mecanismo de acción del CCl_4 es complejo y para el inicio de su toxicidad se requiere su metabolización en el hígado. Además, se indica que por sí mismo no sería tóxico, pero que en el retículo endoplásmico liso entraría a la cadena enzimática microsomal (Taira & Redick, 1980).

El tetracloruro de carbono es usado frecuentemente como un inductor químico de daño hepático experimental debido a que cuando se metaboliza produce los radicales libres, el triclorometil ($\cdot\text{CCl}_3$) que a su vez reacciona con el O_2 para formar el radical triclorometil peroxil ($\text{CCl}_3\text{COO}\cdot$) que puede interaccionar con los fosfolípidos de la membrana (Payer, Lai, & Davis, 1980).

($\text{CCl}_3\text{COO}\cdot$) inicia la rápida peroxidación de lípidos de membrana, lo que provoca una reducción de la fluidez de la membrana (Campo et al., 2001), la cual es esencial para preservar la función celular (transducción de señal, secreción y endocitosis). Se rompen las membranas del RE, se liberan los ribosomas. Se acumulan triglicéridos al no existir síntesis de las apoproteínas necesarias para su salida del hígado. Esto se traduce en esteatosis. Por otro

lado, la peroxidación de lípidos que afecta a la membrana plasmática se traduce en trastornos en el transporte de iones, ingreso masivo de agua, sodio y calcio (Selema de la Morena & Martínez Pérez, 1999). (ver Figura 3).

De manera que dependiendo de la magnitud y tiempo de la acción del tóxico las consecuencias fisiopatológicas difieren, pudiendo encontrarse esteatosis o necrosis masiva (Lowrey, 1981). Dado lo anterior, la necrosis inducida por CCl_4 es más severa en las células centrolobulillares del hígado quienes contienen la más alta concentración de la isoenzima P450 (Hodgson, 2004; Nielsen, 1990), la cual es la responsable de la activación del CCl_4 . Además, se ha observado que el daño hepático, se expresa a través de dos tipos celulares morfológicamente diferentes, necrosis balonizante y necrosis hialina, los cuales alcanzan su máximo a las 24 horas luego de administrado el tóxico (Ortiz, 1988).

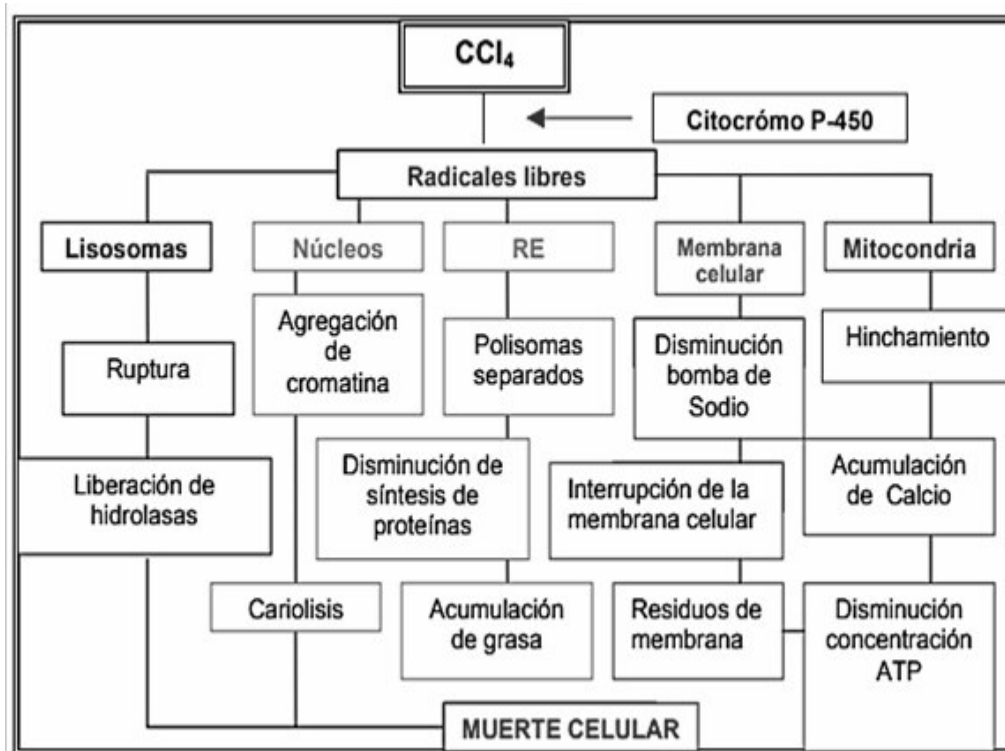


Figura 3. Esquema de alteraciones causadas por tetracloruro de carbono
Fuente. (Morena & Martínez, 1999).

2.3.6. Toxicidad hepática

La hepatotoxicidad se define como la lesión o daño en hígado a consecuencia de una exposición a un medicamento u otros agentes no farmacológicos. La reacción medicamentosa adversa es cualquier respuesta nociva y no intencional que se produce a dosis farmacológicas con fines profilácticos y terapéuticos (Tejada, 2005).

Las reacciones adversas que afectan al hígado son determinadas por alteración de al menos uno de los análisis bioquímicos hepáticos: aumento de alanino aminotransferasa (ALT) superior a dos veces el límite alto de la normalidad, aumento de la concentración de bilirrubina directa sérica más de dos veces el límite alto de la normalidad, aumento de aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (FAL) y la concentración de bilirrubina total, siempre que supere uno de ellos más de dos veces el límite alto de la normalidad (Tejada, 2005).

Las especies reactivas de oxígeno derivadas del oxígeno molecular, que se forman de manera espontánea durante la respiración mitocondrial, se consideran hoy parte importante en el proceso del envejecimiento. A su vez, los radicales libres, incluyendo las especies reactivas de oxígeno, se producen en las células durante procesos patológicos producidos por agentes tóxicos. Este es el caso del proceso de biotransformación de xenobióticos por el sistema microsómico monooxigenasa de función mixta dependiente del citocromo P450, donde se generan, por una parte, intermediarios reactivos derivados del xenobiótico, y por otra, especies activas de oxígeno, H_2O_2 y O_2 derivadas por reducción del oxígeno molecular. H_2O_2 y O_2 pueden a su vez reaccionar en presencia de metales (reacción de Fenton) y dar lugar a especies

de oxígeno más tóxicas como OH y oxígeno singlete. El desequilibrio metabólico que producen en el hígado estos agentes, puede jugar un papel importante en las modificaciones de los mecanismos de respuesta frente a la agresión tóxica (Repetto & Repetto, 2009).

Muchos compuestos dañan a la mitocondria, un organelo intracelular que produce energía. Su disfunción libera una excesiva cantidad de oxidantes que, a su vez, causan daño a la célula hepática. La activación de algunas enzimas en el sistema citocromo P450, tales como el CYP2E1 también conllevan a estrés oxidativo. Las lesiones a los hepatocitos y a las células del conducto biliar producen acumulación de bilis dentro del hígado. Ello promueve la aparición de daño adicional hepático (Anónimo, 2017; Samaniego, 1999). Las células que no pertenecen al parénquima hepático, como las células de Kupffer, células almacenadoras de grasa o células de Ito y leucocitos pueden tener un papel en estos mecanismos tóxicos (Anónimo, 2017; Samaniego, 1999).

Las células han desarrollado mecanismos de defensa frente a la generación de estos radicales, pero en casos de intoxicación masiva o continuada estos sistemas defensivos celulares pueden ser superados, lo que condiciona la situación de estrés oxidativo. En circunstancias extremas, la agresión oxidativa inducida por xenobióticos puede llegar a ocasionar la muerte celular eral, que va precedida por una pérdida de equivalentes de glutatión, una marcada oxidación de los grupos tiólicos de las proteínas, peroxidación de los lípidos de la membrana y elevación del calcio citoplasmático. En condiciones de prolongada exposición a dosis bajas de xenobióticos, no inmediatamente citotóxicas, se pueden

causar modificaciones genómicas, lesión y rotura en las cadenas del DNA (Saxena, Bawa, & Raju, 2009).

Se ha reportado gran cantidad de agentes hepatotóxicos entre los que se encuentra el tetracloruro de carbono. El mecanismo de daño hepático inducido por este agente químico genera peroxidación lipídica a través de los radicales libres (G. Rodríguez, 2001).

Entre los análisis clínicos en suero para diagnóstico de hepatotoxicidad más usados son:

- A. **Transaminasa glutámico pirúvica (TGP):** esta enzima cataliza la acción reductora de transferencia de un grupo amino de alanina a alfa cetoglutarato para producir glutamato y piruvato. El nivel elevado de esta enzima se libera durante daño hepático y detecta necrosis hepatocelular (A. Singh, Bhat, & Sharma, 2011).
- B. **Transaminasa glutámico oxalacética (TGO):** esta enzima cataliza la transferencia reductora de un grupo amino de aspartato a alfa cetoglutarato para producir oxalacetato y glutamato. También ayuda a la detección de necrosis hepatocelular pero es menos específico. La relación entre TGO y TGP puede usarse para diferenciar daño hepático de otros órganos (A. Singh et al., 2011).
- C. **Fosfatasa alcalina (FAL):** esta enzima está presente en los conductos biliares del hígado, hidroliza monofosfatos a pH alcalino.

- D. Elevación de fosfatasa alcalina y/o bilirrubina con poco o no incremento de TGP es un biomarcador de defectos hepatobiliares y colestasis (A. Singh et al., 2011).
- E. **Albumina:** es la principal proteína en sangre y fabricada por el hígado. La hepatotoxicidad conduce a una disminución en su producción. Puede usarse como una prueba suplementaria de función de biosíntesis hepática (A. Singh et al., 2011).
- F. **Proteínas totales:** La estimación de proteínas totales es útil en la diferenciación entre una función hepática normal y daño de funciones hepáticas, ya que la mayoría de proteínas plasmáticas como albuminas y globulinas son producidas en el hígado. Las proteínas totales se reduce ligeramente, pero la relación de albumina y globulina se muestran disminuidas cuando hay daño hepatocelular (A. Singh et al., 2011).

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1 Tipo y diseño de investigación

- Estudio cuantitativo y de diseño experimental (Calva, 2008; Carrasco, Cortes, & Jimenez, 2013).

3.2 Unidad de análisis

- Pulpa de mango (*Mangifera indica* L.)

3.3 Población de estudio

- Mango (*Mangifera indica* L.). Su clasificación taxonómica la realizó el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, según el Sistema de Clasificación de Cronquist – 1988 (ver Anexo 1).

3.4 Tamaño de muestra

- 48 mangos con peso promedio por unidad de $564,19 \pm 10,72$ g.

3.5 Materiales, reactivos y equipos

3.5.1 Material biológico

30 ejemplares de ratas albinas macho cepa Holtzman de la especie *Rattus norvegicus*, edad 2 meses y de un peso promedio de 180 g

220 \pm 20 g y sexo macho, provenientes del Instituto Nacional de Salud Lima – Perú (ver Anexo 2).

3.5.2 Material farmacológico y tóxico

Silimarina con nombre comercial “Higanatur 300 mg” (Sherfarma S.A.) con FV. 21-02-19, N° lote 8822C1 y R.S. DE – 0945, Formaldehído en solución 37 % (Merck) y Tetracloruro de carbono 99,9 % (Spectrum Chemical).

3.5.3 Materiales de laboratorio

Material de vidrio en general para realizar el análisis (fiola 25 mL, pipeta pasteur, vasos de precipitación 50 mL y 250 mL), espátula y cuchillo de acero inoxidable, micropipeta de 10 μ L, gradillas para tubos de ensayo, sonda nasogástrica N° 4, jeringas hipodérmicas de 1 mL, 3 mL y 5 mL.

3.5.4 Equipos

Agitador magnético, analizador de química automático (Mindray BS360), cocina eléctrica PCE-01 (Practika), Espectrofotómetro Único modelo UV 2100, licuadora manual HB150 (Imaco), Microscopio Nikon Eclipse E200 y micrótopo automático electrónico HM 355S (Thermo Scientific™).

3.5.5 Reactivos

Kit de diagnóstico de Alanina aminotransferasa pirúvica GPT/ALT, kit de diagnóstico de Alanina aminotransferasa oxalacética GOT/AST, kit de diagnóstico de Fosfatasa alcalina, kit de diagnóstico de Albúmina AA, kit de diagnóstico de Proteínas Totales, Trolox, DPPH - Free Radical de Wiener lab., aceite de oliva extra virgen (Helty).

3.6 Procedimiento

3.6.1 Selección de muestra

Los frutos de mango (*Mangifera indica* L.) fueron recolectados de la parcela Centro Poblado San Martín Cp.3, ubicado a 72 m de altitud del distrito de Tambo Grande, provincia de Piura, Departamento de Piura. Se seleccionaron utilizando el método aleatorio simple considerando que fruta sana, tamaño y color, durante su temporada de producción enero del 2017, considerando la NTP 203.108:1988 del (Ministerio de Agricultura y Riego, 2012).

3.6.2 Preparación de la mezcla de tetracloruro de carbono

Se realizó una mezcla de tetracloruro de carbono en aceite de oliva a dilución de 1/5 (v/v) (T. Wang et al., 2008).

3.6.3 Preparación de la solución de Silimarina

La solución de silimarina se obtuvo a partir de capsulas blandas con el nombre comercial “Higanatur 300 mg” se vertió el contenido de 1 cápsula en una fiola y se aforo a 25 mL de aceite de oliva, obteniendo una concentración de 12 mg/mL.

3.6.4 Preparación de la pulpa de mango

Se procedió a la recepción, selección considerando la NTP 203.108:1988 del (Ministerio de Agricultura y Riego, 2012), lavado con agua potable y desinfectados en agua clorada (100 ppm de hipoclorito de sodio) durante 10 min. Seguido se removió la piel con un pelador previamente desinfectado con una solución de 200 ppm de hipoclorito de sodio. La pulpa fue depositada en un vaso de precipitación de 250 mL para ser triturada con una batidora por

inversión y finalmente se obtuvo la pulpa de mango para la administración a los animales de experimentación y evaluación de la actividad antioxidante (Cock & León, 2014).

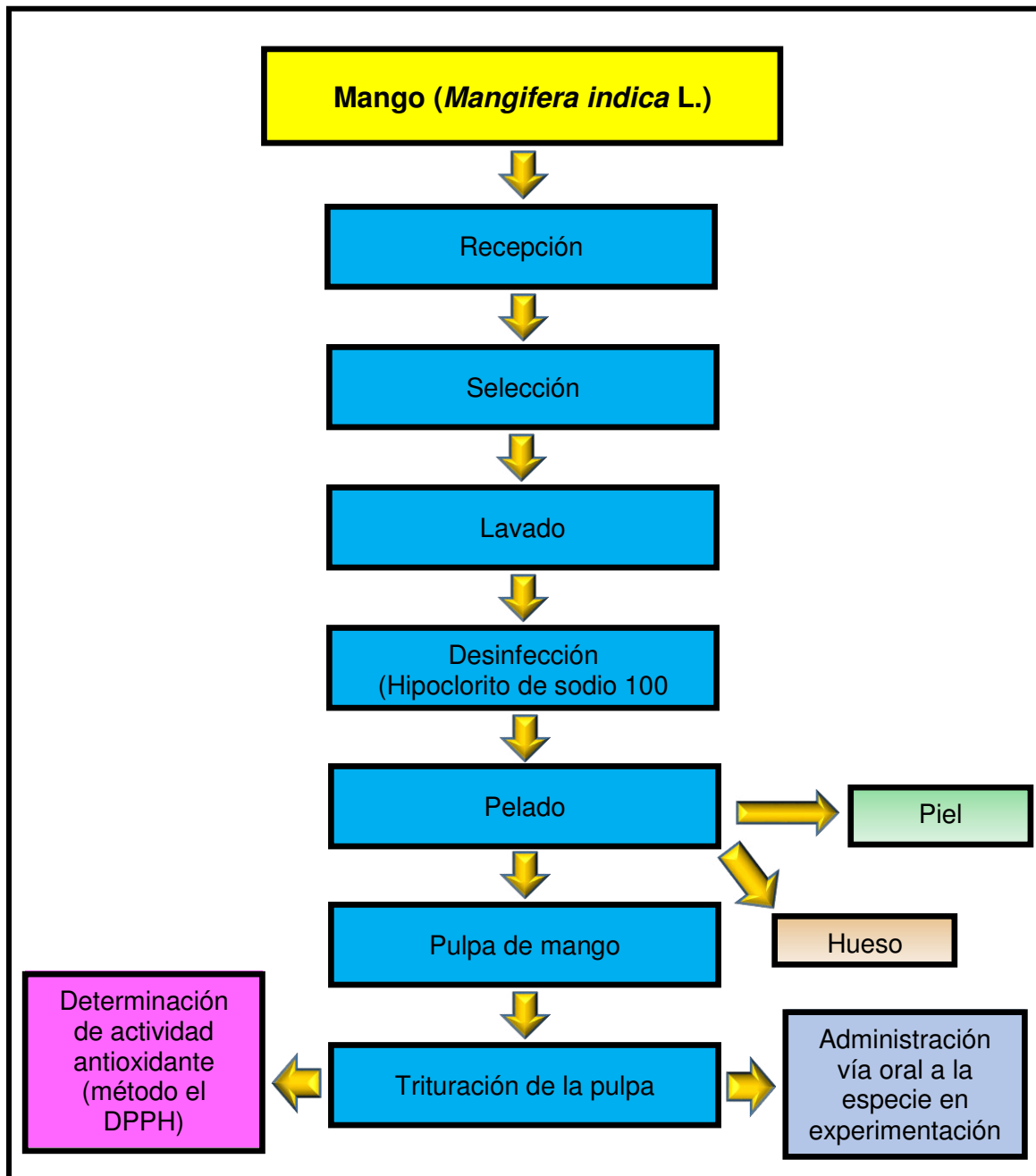


Figura 4. Flujo de operaciones para la cuantificación de la actividad antioxidante a partir del mango (*Mangifera indica* L.)

Fuente. Elaboración propia, diciembre 2016

3.6.5 Inducción de lesión hepática con tetracloruro de carbono

Se realizó según (T. Wang et al., 2008), utilizando 30 ejemplares de *Rattus norvegicus* que fueron distribuidos en cinco grupos experimentales de 6 animales cada uno.

Grupo I: se administró por vía oral a los animales de experimentación aceite de oliva 1,0 mL/kg considerado control negativo.

Grupo II: se administró por vía oral a los animales de experimentación, dosis única 0,4 mL/kg de una mezcla 1:5 (v/v) de CCl₄ y aceite de oliva, considerado el control positivo para la intoxicación por CCl₄.

Grupos III y IV: se administraron por vía oral a los animales de experimentación, dosis única 0,4 mL/kg de una mezcla 1:5 (v/v) de CCl₄ y aceite de oliva y dosis de pulpa de mango en 1,0 y 2,0 g/kg, respectivamente a las 2, 24, 48 y 72 h después de la administración del CCl₄, considerados los grupos de tratamiento.

Grupo V: se administró por vía oral a los animales de experimentación, dosis única 0,4 mL/kg de una mezcla 1:5 (v/v) de CCl₄ y aceite de oliva; y silimarina en dosis de 100 mg/kg a las 2, 24, 48 y 72 h después de la administración CCl₄.

Todos los animales fueron sacrificados 96 h después de iniciada la inducción de la lesión hepática con CCl₄.

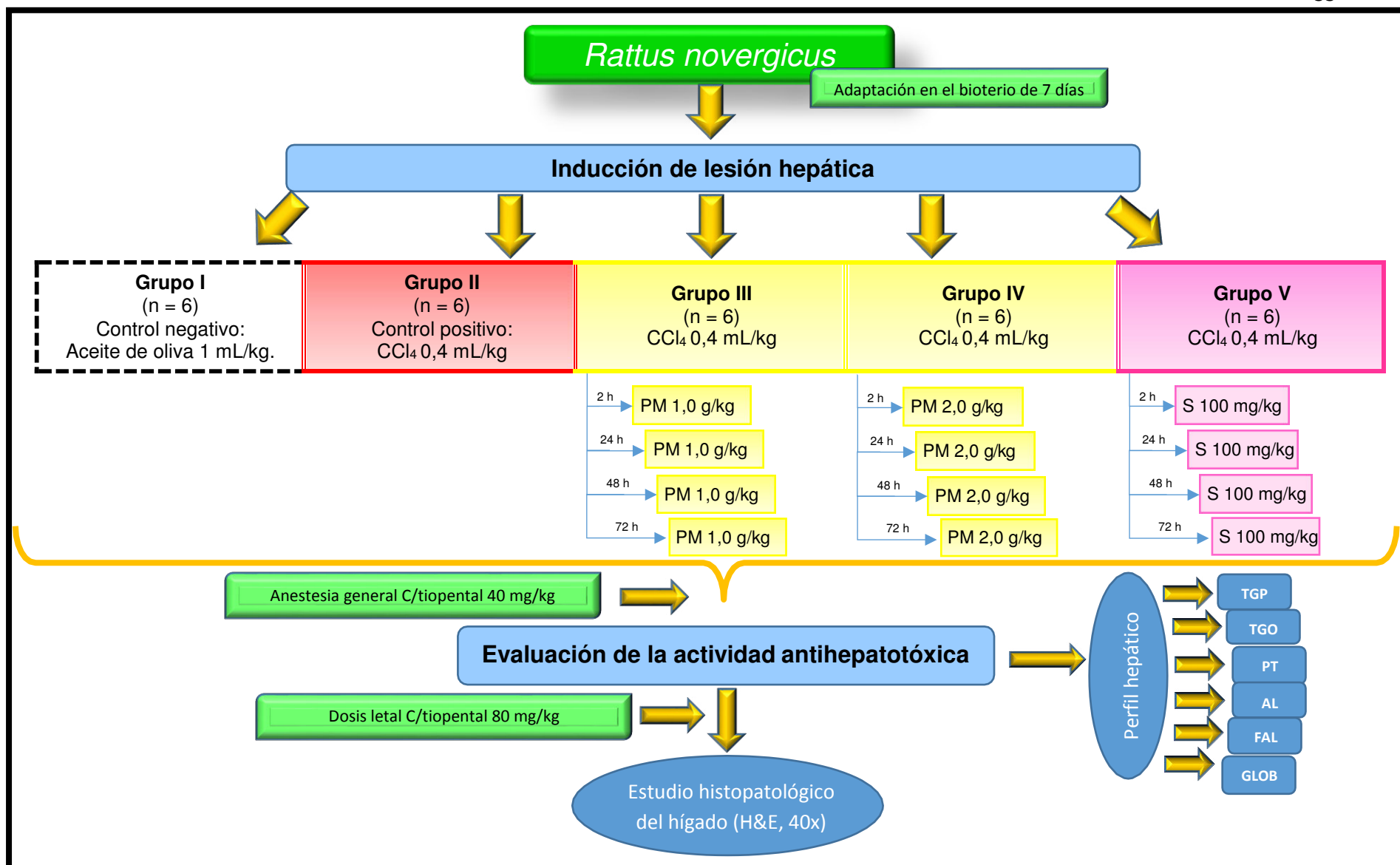


Figura 5: Flujograma de inducción de lesión hepática y evaluación de la actividad antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.)

Fuente. Elaboración propia, enero 2017.

Leyenda. PM: pulpa de mango, S: silimarina.

3.6.6 Actividad antioxidante

El método que se utilizó fue DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo) según (Villanueva-Tiburcio, Condezo-Hoyos, & Asquieri, 2010) se basa en decoloración del radical DPPH[•] por la presencia de antioxidantes. El radical DPPH[•] es un compuesto sólido de color púrpura y presenta un electrón desapareado, cuando este radical libre se estabiliza frente a un antioxidante se decolora hasta quedar de color amarillo pálido. La disminución de la absorbancia a 517 nm es directamente proporcional a la capacidad antioxidante.

Se preparó una solución de DPPH a 0,06 mM la cual fue utilizada para determinar la capacidad antioxidante de los extractos de mango. El estándar utilizado fue Trolox a concentraciones de 0,8 mM, 0,4 mM, 0,2 mM, 0,1 mM e 0,05 mM. Con las cuales se obtuvo la curva de calibración.

Para el análisis de la capacidad antioxidante se tomó 1450 µL de reactivo DPPH y se colocó dentro de una cubeta y se efectuó la lectura a 515 nm, obteniéndose la lectura de la absorbancia a tiempo cero, luego se adicionó 50 µL de extracto de la muestra y luego de 15 minutos se midió la absorbancia. Para determinar el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ inhibición DPPH}^{\bullet} = [(Abs \text{ } t=0 \text{ min} - Abs \text{ } t=15 \text{ min}) / Abs \text{ } t=0 \text{ min}] * 100$$

Calculando el porcentaje de inhibición se relacionó con la capacidad antioxidante de las muestras confrontadas al radical DPPH, expresadas en mM de Trolox equivalente. Sucesivamente con cálculos correspondientes se obtuvo la capacidad antioxidante total que se expresó como mM por cada gramo de muestra utilizada.

3.5.7 Evaluación de la actividad antihepatotóxica en ratas

3571 Obtención de las muestras sanguíneas e hígado. Se anestesió a las *Rattus novergicus* con tiopental vía intraperitoneal a dosis 40 mg/kg y se extrajo las muestras sanguíneas por punción cardiaca. A dosis letal 80 mg/kg se sacrificaron a los especímenes *Rattus novergicus* y mediante la necrosis se procedió a la extracción hígado para el análisis histopatológico.

3572 Perfil hepático. Se realizó analizando los marcadores bioquímicos de: (TGO), (TGP), (FAL), (PT), (AL), y Globulina. Las muestras fueron procesadas en el analizador de química automática Mindray BS360 (Arroyo et al., 2012).

3573 Estudio histopatológico. Se realizaron cortes de hígado: 0,5 x 1,0 cm de espesor, los que fueron fijados en formol neutro al 10 %, siendo seccionados para inclusión en porciones de 2 mm de espesor; posteriormente, se efectuó cortes con micrótopo automático electrónico Thermo Scientific TM HM 355S, en un espesor de 3 a 5 micras, para luego ser coloreados con hematoxilina-eosina (H&E) y revisados con microscopio óptico (40x), siendo los indicadores células de Kupffer, esteatosis y colestasis (Troncoso & Guija, 2013).

3.7 Análisis e interpretación de la información

Para la comparación de los promedios de los parámetros del perfil hepático se verificó en primera instancia si los datos obtenidos presentan una distribución normal con el test de Shapiro - Wilk, para la aplicación del Análisis de Varianza (ANOVA). Finalmente la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis a través del Programa estadístico SPSS v22.0.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Pruebas de hipótesis

La pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) tiene elevada actividad antioxidante y antihepatotóxica en ratas con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

4.2 Presentación de resultados

Tabla 1. Actividad antioxidante de la pulpa de *Mangifera indica* L. (mango) expresado en mM de Trolox Eq./g de pulpa.

Muestras	mM Trolox Eq./g de pulpa de mango fresco y desviación estándar.
<i>Pulpa Mangifera indica</i> L. (n = 6)	23,7 ± 2,3

Fuente. Resultados en función a las absorbancias obtenida de lecturas en el espectrofotómetro de cada muestra, enero 2017.

Tabla 2. Evaluación del perfil hepático postratamiento para cada grupo experimental de ratas albinas machos cepa Holtzman de la especie *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono y grupos control negativo y positivo

Grupos	Promedio y desviación estándar (n = 6 por grupo)					
	TGO** (U/L)	TGP** (U/L)	PT** (g/dL)	Albúmina** (g/dL)	Globulina** (g/dL)	FAL ** (U/L)
I: control negativo*	89,33 ± 9,85	85,66 ± 10,81	7,13 ± 0,40	3,86 ± 0,50	3,26 ± 0,40	99,66 ± 1,36
II: Control positivo CCl₄*	204,33 ± 29,39	338,66 ± 63,90	8,23 ± 0,40	3,30 ± 0,55	4,93 ± 0,82	458,66 ± 57,86
III: CCl₄ + mango en 1,0 g/kg*	150,67 ± 15,70	133,33 ± 14,34	6,76 ± 0,76	3,60 ± 0,31	3,16 ± 0,44	125,33 ± 31,44
IV: CCl₄ + mango en 2,0 g/kg*	132,33 ± 11,40	98,66 ± 7,22	7,00 ± 0,08	3,80 ± 0,08	3,20 ± 0,13	109,66 ± 31,24
V: CCl₄ + silimarina 100mg/kg	94,33 ± 14,13	95,33 ± 7,22	6,16 ± 1,12	3,93 ± 0,41	2,23 ± 0,78	115,00 ± 7,74

Leyenda:

*Media ± desviación estándar

**TGO: Transaminasa glutámico oxalacética; TGP: Transaminasa glutámico pirúvica; PT: Proteínas Totales; FAL: Fosfatasa Alcalina, albumina y Globulina.

Fuente. Elaboración a base de los resultados de perfil hepático, enero 2017

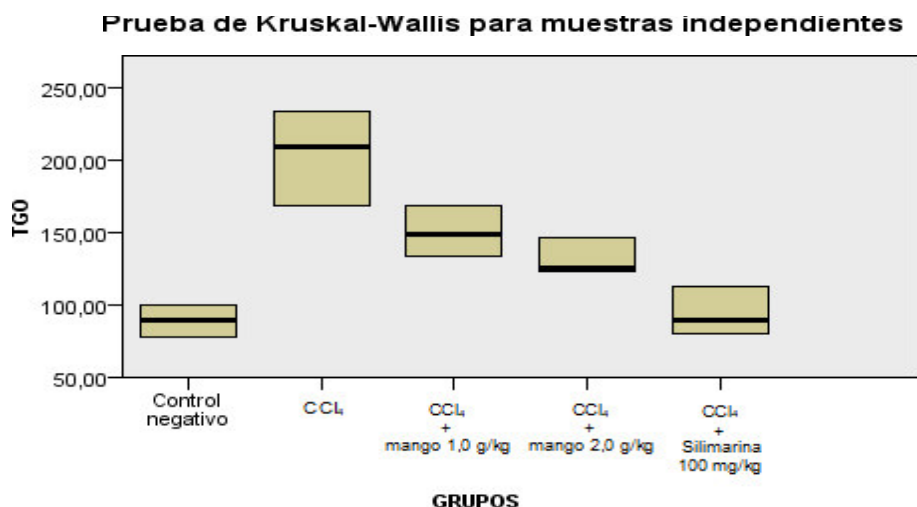


Figura 6. Comparación del promedio de la concentración de Transaminasa Glutámico Oxalacética (TGO) expresados en (U/L) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

Fuente. Tabla 2.

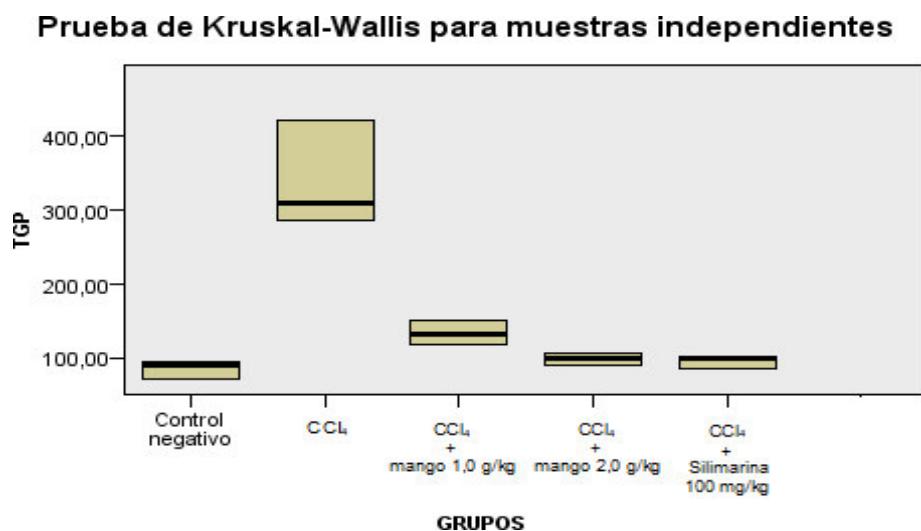


Figura 7. Comparación del promedio de la concentración de Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP) expresados (U/L) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

Fuente. Tabla 2.

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

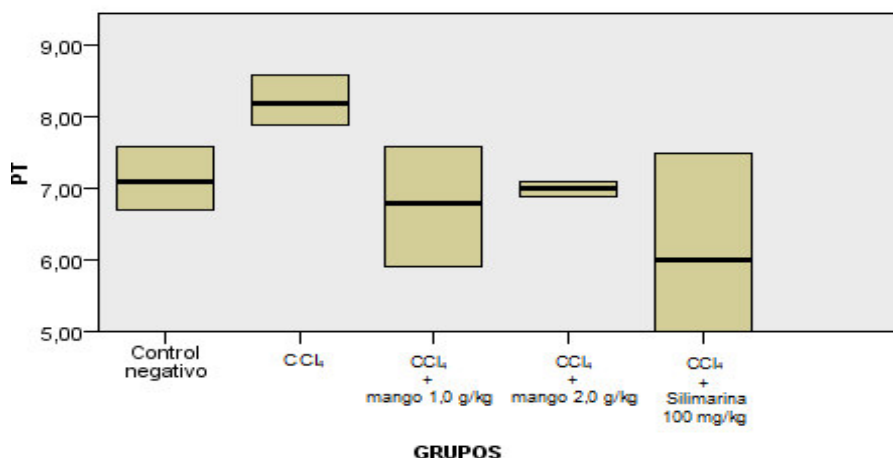


Figura 8. Comparación del promedio de la concentración de Proteínas Totales (TP) expresados (g/dL) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

Fuente. Tabla 2.

Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes

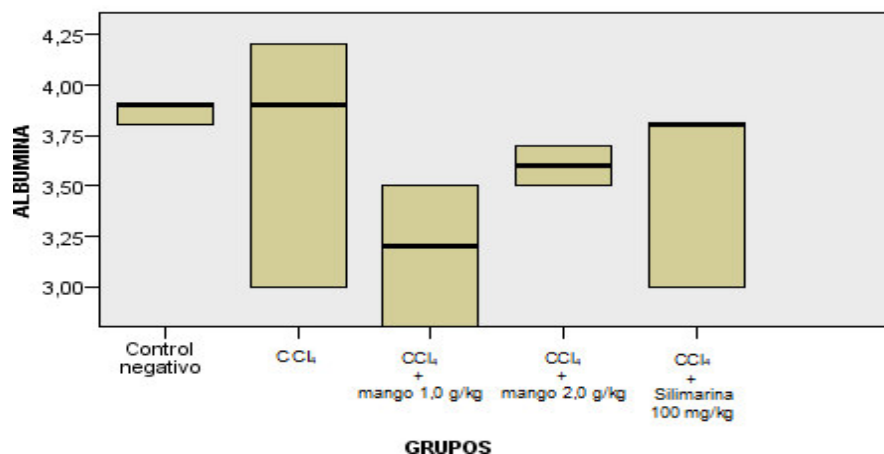


Figura 9. Comparación del promedio de la concentración de Albumina (ALB) expresados (g/dL) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

Fuente. Tabla 2.

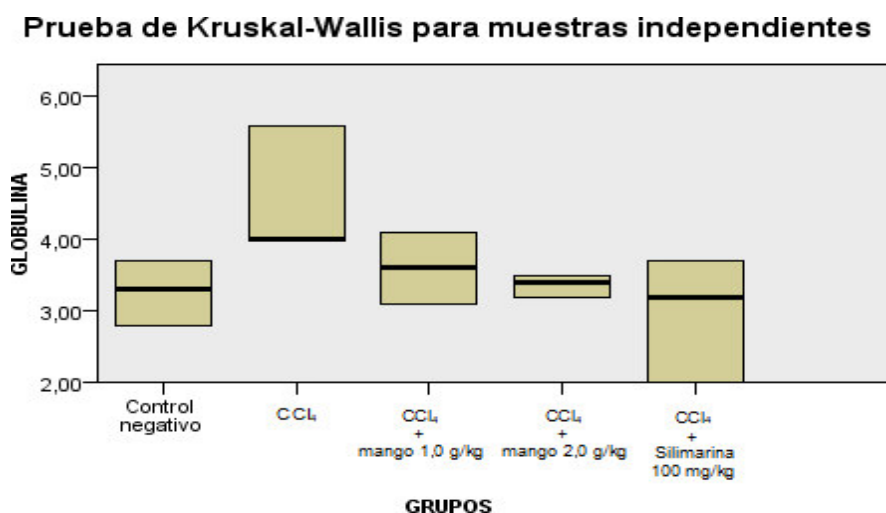


Figura 10. Comparación del promedio de la concentración de Globulina (GLOB) expresados (g/dL) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

Fuente. Tabla 2.

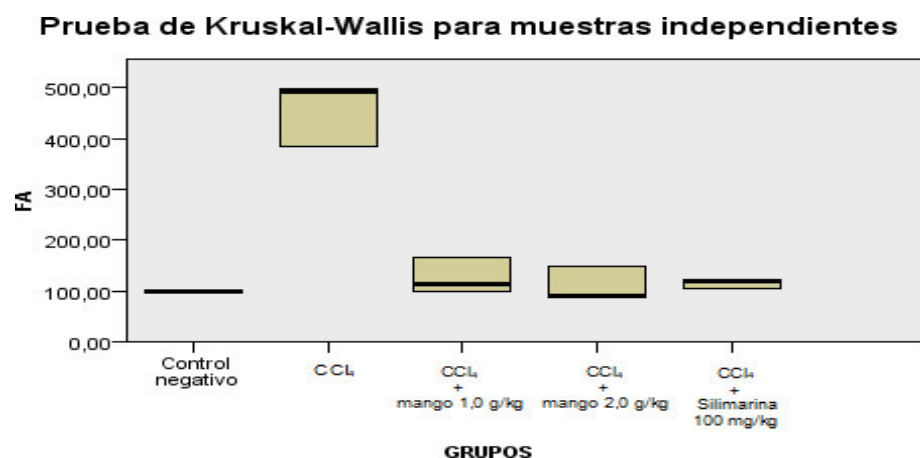


Figura 11. Comparación del promedio de la concentración de Fosfatasa Alcalina (FAL) expresados (U/L) entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

Fuente. Tabla 2.

Tabla 3. Comparación de los parámetros hepáticos entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas Albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono

Comparación entre grupos por parámetro hepático	Prueba H de Kruskal Wallis Significancia
TGO	0,000**
TGP	0,000**
PT	0,000**
Albumina	0,004**
Globulina	0,001**
FAL	0,000**

**p < 0,01

Fuente. Datos de la tabla 1

HISTOPATOLOGÍA DEL DAÑO HEPÁTICO

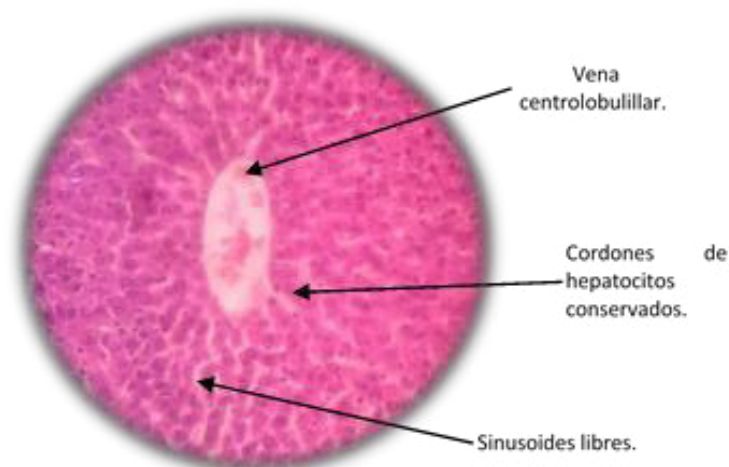


Figura 12. Tejido hepático con parénquima normal. GI: control negativo (H&E, 40x).

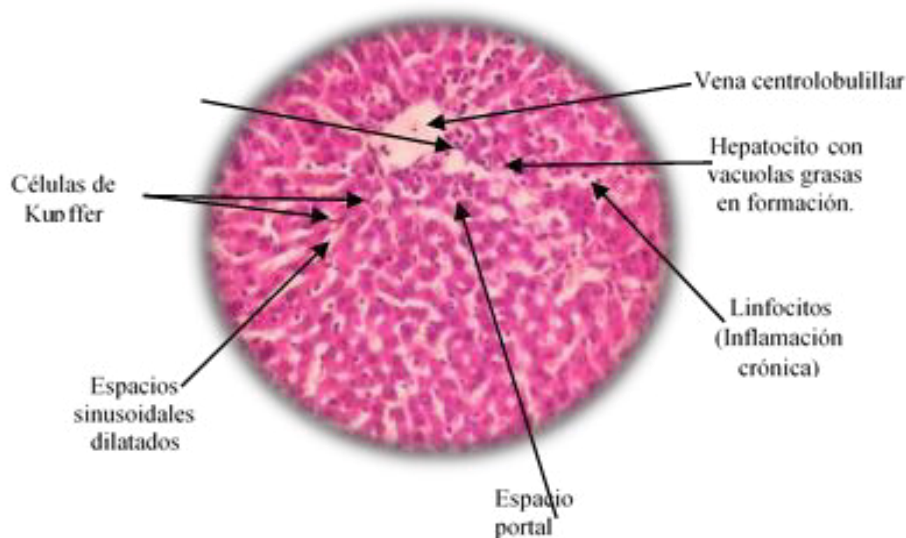


Figura 13A. Tejido hepático con estructuras dañadas. El Hepatocito presenta lípidos en el citoplasma (esteatosis macrovesicular), el núcleo es rechazado hacia el exterior, presencia de células de Kupffer, espacios sinusoidales dilatados. GII: Control positivo (H&E, 40x).

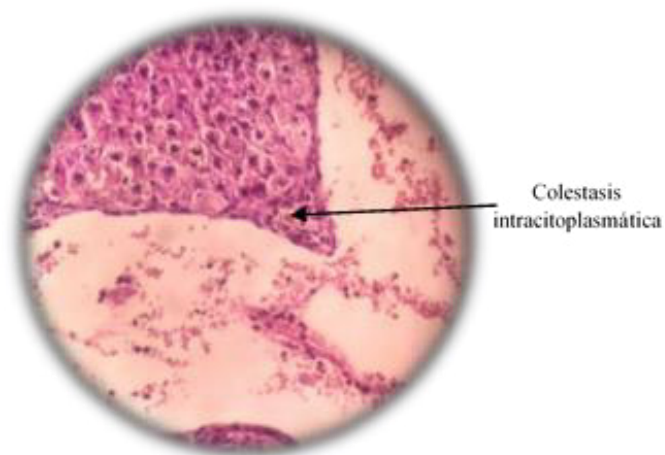


Figura 13B. Tejido hepático con colestasis (pigmento biliar intracitoplasmática), GII: Control positivo (H&E, 40x).

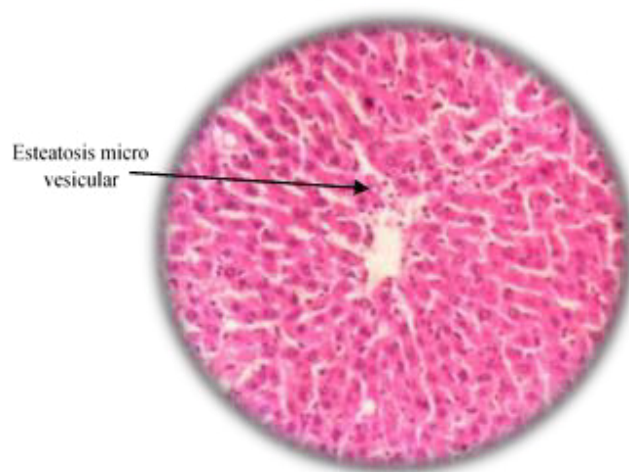


Figura 13C. Tejido hepático muestran esteatosis microvesicular (burbujas de jabón). GII: control positivo (H&E, 40x).

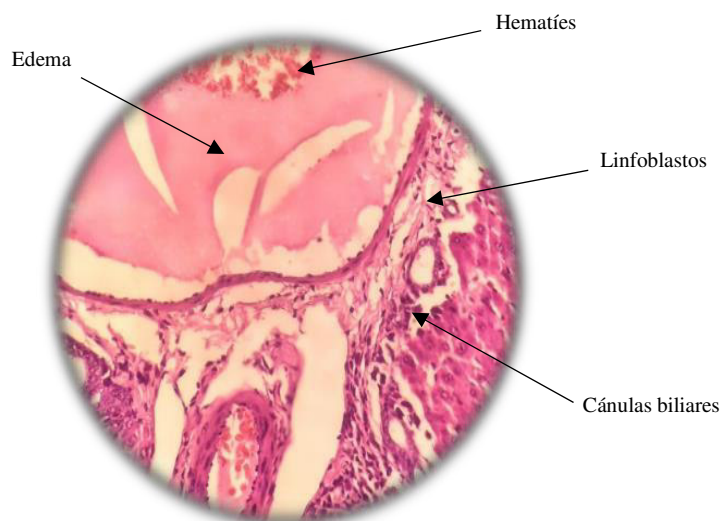


Figura 13D. Tejido hepático muestran inflamación crónica, espacio portal dilatado con congestión vascular – edema. GII: control positivo (H&E, 40x).

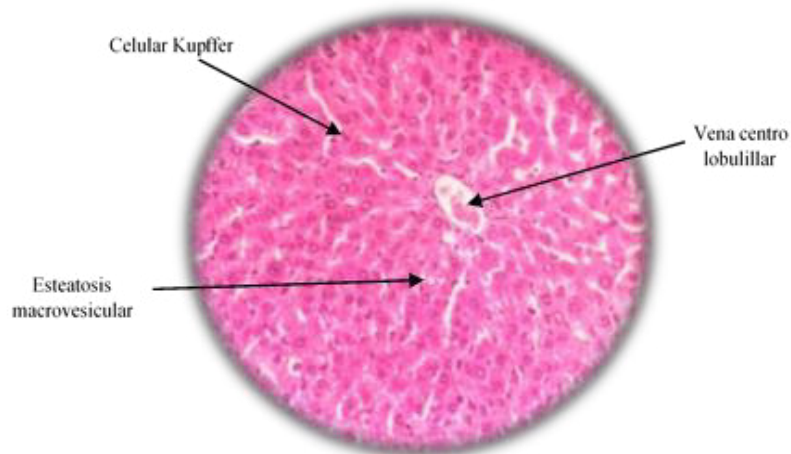


Figura 14. Tejido hepático muestran leve congestión vascular de vena centro lobulillar, escasos focos de esteatosis macrovesicular, disminución de células de Kupffer y leve congestión vascular de vena centrolobulillar. G III: CCl₄ + pulpa de mango 1,0 g/kg (H&E, 40x).

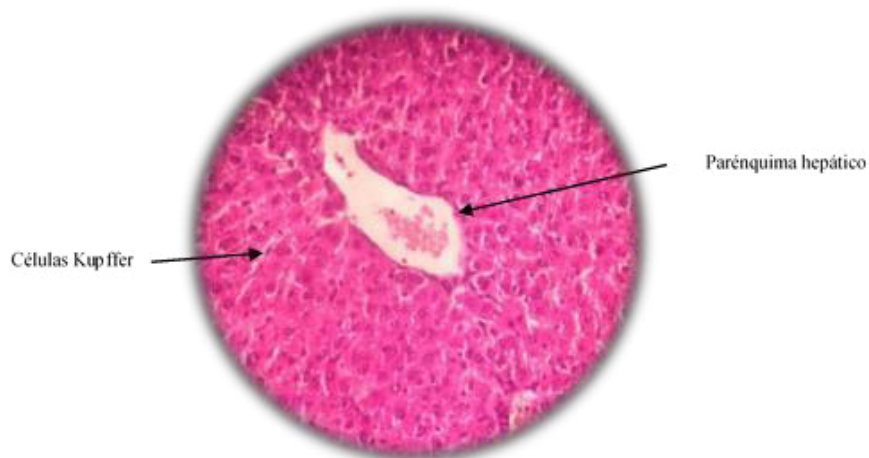


Figura 15. Tejido hepático muestra parénquima sin congestión vascular, ni esteatosis macro y microvesicular, escasas células de Kupffer. GIV: CCl₄ + pulpa de mango 2,0 g/kg (H&E, 40x).

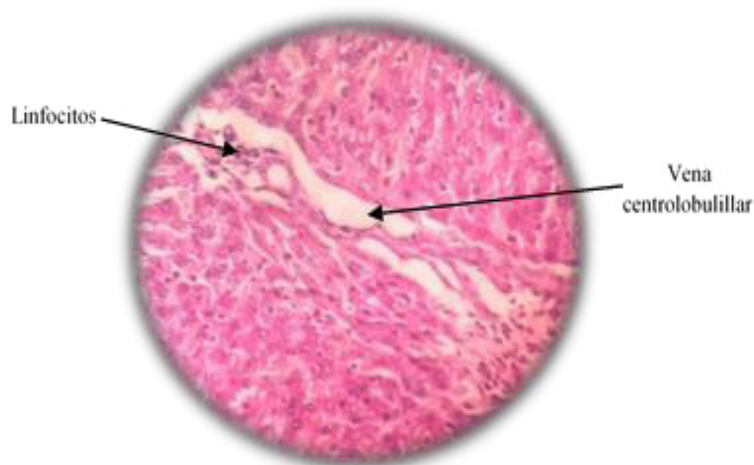


Figura 16. Tejido hepático presenta escasos linfocitos, disminución del infiltrado inflamatorio crónico, edema, congestión vascular y esteatosis. GV: CCl₄ + silimarina 100 mg/kg (H&E, 40x).

4.3. Análisis, interpretación y discusión de resultados

En los últimos años la comunidad científica ha puesto mayor énfasis en los estudios de plantas y/o alimentos con potencial terapéutico, con la finalidad de prevenir o coadyuvar en el tratamiento de las enfermedades, principalmente de índole crónica degenerativa, siendo estas propiedades atribuidas a sus componentes químicos (Caballero, 2014). Para las estrategias terapéuticas de la lesión y enfermedad hepática, es necesario evaluar productos vegetales y sus componentes antioxidantes que puedan bloquear las lesiones hepáticas producidas por radicales libres generados a través de productos tóxicos de manera experimental. (Khan et al., 2004).

El presente estudio de investigación se realizó a fin de evaluar la actividad antioxidante y antihepatotóxica de la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas albinas machos – *Rattus*

norvegicus con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono.

En la tabla 1, se presenta la determinación de actividad antioxidante de pulpa de mango (*Mangifera indica* L.), con una media y desviación estándar de $23,7 \pm 2,3$ mM de TroloxEq/g de pulpa; determinados por el método DPPH. Este es un radical libre sintético que puede ser eliminado eficazmente por antioxidantes (Villaño, Fernández-Pachón, Moyá, Troncoso, & García-Parrilla, 2007). Los resultados de esta investigación guardan relación al realizado en el año 2011, donde se encontró una actividad de eliminación de radicales libres determinada por DPPH que varió de 461 ± 22 a $2\,930 \pm 18$ μ M Trolox Eq./g (Ma et al., 2011). Se cree que los efectos de los antioxidantes en la eliminación de radicales DPPH, se deba a su capacidad de donar hidrógeno, uno de los principales mecanismos antioxidantes para inhibir la reacción en cadena de la peroxidación lipídica según: (Conforti, Loizzo, Statti, & Menichini, 2005; Rekka & Kourounakis, 1991). *Mangifera indica* L. presenta actividad antioxidante, debido a que contiene en la porción comestible ácido ascórbico, carotenoides, polifenoles, terpenoides que poseen efectos protectores para la salud (Ma et al., 2011). Los polifenoles son sustancias naturales, que son antioxidantes con el potencial de proteger y combatir enfermedades en el ser humano. Los primeros estudios demostraron que los principales compuestos fenólicos encontrados en *Mangifera indica* L. son la leucocianidina, catequina, epicatequina, ácido clorogénico, quercitrina y quercetina (Berardini, Knödler, Schieber, & Carle, 2005; Schieber, Ullrich, & Carle, 2000). *Mangifera indica* L. también contiene importantes cantidades de pigmentos, incluidas las clorofilas y los carotenoides (Grundhöfer, Niemetz, Schilling, & Gross, 2001).

En la tabla 2 de la evaluación del perfil hepático se presentan los diferentes marcadores bioquímicos (TGO, TGP, FAL, PT, AL y Glob), la administración del CCl_4 produjo cambios en las actividades de las enzimas hepáticas TGO, TGP y FAL. El tratamiento con diferentes dosis de *Mangifera indica* L. revirtió significativamente los cambios en una forma dependiente de la dosis no existiendo diferencia significativa como la silimarina (Fahmy et al., 2016).

CCl_4 es un agente hepatotóxico prominente y la inhibición del daño hepático por CCl_4 se ha usado comúnmente como indicador de actividad hepatotóxica de fármacos (Clawson, 1989). CCl_4 es biotransformado por el sistema del citocromo P450 para producir radicales libres de triclorometilo ($\text{CCl}_3\bullet$). La unión covalente de radicales triclorometilo con macromoléculas celulares inicia la peroxidación lipídica de la membrana y la necrosis celular. Estos radicales libres pueden reaccionar con el oxígeno para formar una especie altamente reactiva que es radicales triclorometil peroxilo, $\text{CCl}_3\text{OO}\bullet$. El radical triclorometil peroxilo inicia la reacción en cadena de la peroxidación lipídica que finalmente produce necrosis celular y muerte (Recknagel, Glende, Dolak, & Waller, 1989).

La activación hepática por el tetracloruro de carbono conduce a la formación de metabolitos tóxicos que causan daño en los tejidos del hígado y lo demuestra el aumento de las enzimas hepáticas en el suero. El incremento de los niveles de las enzimas TGP, TGO y FAL es la clara expresión de representación de células dañadas y pérdida de la integridad funcional de la membrana celular (Jiménez, Maceira, Martínez, Pérez, & Montero, 2013); tal como se observa valores de TGO, TGP y FAL en el grupo positivo con CCl_4 correspondiente a $204,33 \pm 29,39$; $338,66 \pm 63,90$ y $458,66 \pm 57,86$ U/L respectivamente

en comparación tomando como referencia al grupo control negativo de $89,33 \pm 9,85$, $85,66 \pm 10,81$ y $99,66 \pm 1,36$ U/L.

La formación de peróxidos orgánicos después de la reacción con oxígeno guía al retículo endoplásmico a la hinchazón, alisamiento de su estructura y disociación de los ribosomas que forman parte de él. Le sigue el cúmulo de lípidos, debido a la incapacidad de la célula de sintetizar proteínas a partir de los triglicéridos; lo cual conduce al hígado graso. La ulterior liberación de productos de la peroxidación lipídica causa daño de la membrana plasmática a causa del incremento de su permeabilidad. Esto es seguido de la hinchazón progresiva de la célula con entrada masiva de calcio que conduce la célula a la muerte. El incremento de los niveles de TGP y TGO es la clara expresión de presencia de células dañadas y pérdida de la integridad funcional de la membrana celular; lo cual se vió en el grupos tratados con CCl_4 (Jiménez et al., 2013).

En tanto la silimarina que es un flavonoide antioxidante aislado del cardo mariano (*Silybum marianum* (L.) Gaertn) y se utiliza clínicamente como un desintoxicante del hígado y hepatoprotector. (Cho et al., 2009; Polyak et al., 2010). Se conoce que la silimarina es un compuesto de cuatro isómeros flavonolignanicos, conocidos como silibina, isosilibina, silidianina y silicristina (Saller et al., 2001; Vailati et al., 1993); ha ratificado su efecto sobre la lesión hepática, como se evidenció en el GV (CCl_4 + silimarina 100 mg/kg) disminuye los niveles de actividad enzimática sérica TGO $94,33 \pm 14,13$; TGP $95,33 \pm 7,22$ y FAL $115,00 \pm 7,74$ U/L en comparación con el grupo control positivo.

A los grupos III (TGO $150,67 \pm 15,70$; TGP $133,33 \pm 14,34$ y FAL $125,33 \pm 31,44$); y IV (TGO $132,33 \pm 11,40$; TGP $98,66 \pm 7,22$ y FAL $109,66 \pm 31,24$) que se le administraron la pulpa de *Mangifera*

indica L. redujeron los niveles de las enzimas séricas a nivel hepático, teniendo valores similares que el GV (CCl₄ + silimarina 100mg/kg) y el GI (control negativo) siendo en ambos casos la disminución significativa ($p < 0,01$). La disminución significativa de los niveles de transaminasas y las lesiones hepáticas con la administración de *Mangifera indica* L. posiblemente protegiendo la membrana celular del hepatocito, evitando el desequilibrio colesterol-fosfolípidos y esfingomielina-fosfatidilcolina. Y de acuerdo con el informe de Fahmy (Fahmy et al., 2016) , la administración de *Mangifera indica* L. mostró un efecto protector contra la disfunción hepática inducida por ciclofosfamida al disminuir las actividades de las enzimas AST y ALT, mostrando su potencial para mantener el estado funcional normal del hígado.

La elevación en suero de estas enzimas es el resultado del vertido a la sangre del contenido enzimático de los hepatocitos afectados debido al aumento de la permeabilidad de la membrana celular de los mismos; como consecuencia de la necrosis celular, siendo por tanto un hecho frecuente que las transaminasas se encuentren elevadas en muchas hepatopatías, pero especialmente en aquellas en las que predomina la existencia de necrosis hepatocitaria; teniendo en cuenta que la ALT es relativamente específica del hígado mientras que la AST, además del hepatocito, se puede encontrar en el músculo cardíaco o esquelético, riñón, cerebro, páncreas y células hematopoyéticas (Gonzales & Santos, 2013).

Los radicales libres generados, no solo quedan en su lugar de origen, sino que circulan por el torrente sanguíneo afectando a otras células de nuestro organismo. La albúmina, capta estos radicales libres y es modificada por oxidación con lo cual conllevaría a un aclaramiento rápido de la circulación y con ello una disminución de sus niveles

GII (Control positivo CCl₄) $3,30 \pm 0,55$ con respecto al control negativo $3,86 \pm 0,50$ (Oettl et al., 2008).

En el presente trabajo se ha demostrado la reducción de los marcadores bioquímicos como indicadores de la actividad antioxidante que presenta *Mangifera indica* L. demostrada en el tabla 3 del presente estudio. Al evaluar los diferentes marcadores bioquímicos, si hubo diferencia significativa ($p < 0,01$) en la comparación de los parámetros hepáticos entre grupos: GI (control negativo: aceite de oliva 1,0 mL/kg), GII (control positivo: CCl₄), GIII (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 1,0 g/kg) y GIV (CCl₄ + *Mangifera indica* L. 2,0 g/kg) y GV (CCl₄ + silimarina 100 mg/kg) en ratas albinas machos - *Rattus norvegicus* con toxicidad hepática inducida por tetracloruro de carbono teniendo como resultados de significancia en la prueba estadística no paramétrica de Kruskal Wallis TGO ($p < 0,000$), TGP ($p < 0,000$), PT ($p < 0,000$), Albumina ($p < 0,004$), Globulina ($p < 0,001$), FAL ($p < 0,000$). De acuerdo a la busca científica realizada hasta el momento no hay estudios que muestre $p =$ valor en sus resultados, excepto de las medias y desviación estándar, sin embargo es preciso mencionar que este análisis es de gran significancia.

El tetracloruro de carbono se metaboliza activamente por el citocromo P450 al radical triclorometilo, el cual inicia la lipoperoxidación celular, produciendo daño hepático al comprometer la integridad de las membranas y por la unión covalente de intermedios reactivos a moléculas biológicamente importantes, como el glutatión, induciendo necrosis y daño hepático en general (Aldaba-Muruato, Moreno, Shibayama, Tsutsumi, & Muriel, 2012; G. Wang, Eriksson, Xia, Olsson, & Stål, 1999).

En procesos de estrés oxidativo o inflamatorio en donde las células de Kupffer se activan, interactúan con un complejo de proteínas situado en la vía de señalización de las membranas extracelulares para producir toda una serie de factores solubles, como citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento, metabolitos de la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa; y especies reactivas del oxígeno como el anión superóxido, el peróxido de hidrógeno y el óxido nítrico, que ejercen fisiológicamente diversos efectos paracrinós y fundamentales sobre todos los demás tipos de células del hígado, produciendo en última instancia la lesión hepática (Cubero & Nieto, 2006).

Los tejidos y las células estarían sujetos a lesiones oxidativas cuando se generan grandes cantidades de radicales libres internos o se deterioran las actividades del sistema antioxidante. En consecuencia, la terapia antioxidante representa una estrategia potencial para prevenir la lesión hepática y la fibrosis. En ratas con daño hepático inducción por CCl₄, se ha encontrado correlación inversa entre las enzimas antioxidantes y las puntuaciones patológicas y/o de peroxidación lipídica (Galisteo et al., 2006; L. Wang et al., 2009).

En la presente investigación, los cambios histopatológicos hallados fueron: GII: control positivo (ver Figura 13A, 13B, 13C y 13D) la toxicidad hepática inducida por CCl₄ se evidencia observándose tejido hepático con estructuras dañadas, el hepatocito presenta cambios grasos en el citoplasma (esteatosis macrovesicular), el núcleo es rechazado hacia el exterior, presencia de células de Kupffer e inflamación periportal (Alsheblak, Elsherbiny, El-Karef, & El-Shishtawy, 2016); GIII (ver Figura 14) presentó moderada congestión vascular, leve vacuolización perinuclear y dilatación sinusoidal; GIV (ver Figura 15) y GV (ver Figura 16) se observa disminución de la

congestión vascular sinusoidal, dilatación sinusoidal y vacuolización perinuclear con respecto al GII.

Es conocido que la mayoría de los flavonoides son poderosos antioxidantes y poseen diversas actividades antiinflamatorias; los flavonoides son inhibidores de la formación de leucotrieno B₄, potenciadores de la formación de prostaglandina E₂ e inhibidores de la liberación de óxido nítrico (Moreno-Loaiza & Paz-Aliaga, 2010). Así como efecto hepatoprotector relacionado con la capacidad de estos de disminuir el estrés oxidativo y atrapar radicales libres, tanto *in vivo* como *in vitro*; un ejemplo es el caso de la quercetina, la cual ha demostrado ser efectiva contra el daño hepático en ratas con inducción de cirrosis con tetracloruro de carbono, asociado con un incremento de la capacidad antioxidante del hígado para atrapar radicales peroxilo; y en ratas con obstrucción biliar crónica, el tratamiento con quercetina resultó en una preservación significativa de la actividad de las enzimas antioxidantes, fibrosis menos pronunciada y marcada inhibición de la proliferación ductular biliar (C. Rocha, Bolognesi, Gaspari, Miguel, & Costa, 2012).

Entre los principales hallazgos histológicos de este estudio estuvo la disminución de la lesión a la estructura hepática influenciada, por la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) en ratas con toxicidad hepática inducida por CCl₄ (ver Figura 15). En esta figura se aprecia reducción de la lesión hepática similar a lo obtenido con la administración de la silimarina (ver Figura 16); si bien existe lesión moderada, la presencia de fibrosis es marcadamente menor en el control con los inductores y menor en los tratamientos; se desconoce el mecanismo específico por el cual esta pulpa de mango actúa contra el daño hepático; sin embargo, estaría directamente relacionado al contenido de la porción comestible

como ácido ascórbico, carotenoides, polifenoles, terpenoides que poseen antihepatotoxicos protectores para la salud (Ma et al., 2011).

En los escenarios experimentales se ha justificado que la pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) ejerce actividad antihepatotóxico frente a la lesión hepática por tetracloruro de carbono debido a su actividad antioxidante, siendo comparada al efecto dado por similarina.

CONCLUSIONES

1. La pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) tiene actividad antioxidante equivalente al trolox en $23,7 \pm 2,3$ mM/g de pulpa; esto se debería a su contenido de ácido ascórbico, carotenoides totales y compuestos fenólicos que actuando sinérgicamente serían los responsables de ésta actividad biológica.
2. El postratamiento con pulpa de *Mangifera indica* L. en *Rattus novergicus* con lesión hepática ocasionadas por CCl₄, redujo significativamente los niveles enzimáticos séricos (TGO, TGP y FAL) y ligeramente aumento las proteínas totales y albumina.
3. La dosis de 2,0 g de pulpa de mango/kg administrado a *Rattus novergicus* atenuaron significativamente las lesiones producidas por CCl₄, no existiendo diferencia significativa con el tratamiento de silimarina,
4. La pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) posee significativa actividad antihepatotóxica en *Ratus novergicus* con lesión hepática inducida por tetracloruro de carbono, relacionada a su elevada actividad antioxidante.

RECOMENDACIONES

1. Es necesario realizar análisis bioquímicos complementarios para un mejor entendimiento de la toxicidad hepática, determinando lactato deshidrogena, superóxido dismutasa y glutatión reducido.
2. Se debería realizar estudios para identificar los compuestos fenólicos presentes en *Mangifera indica* L., a quienes se les atribuye la actividad antioxidante y antihepatotóxica.
3. Es pertinente evaluar el comportamiento del estrés oxidativo en los hepatocitos por acción de la pulpa de *Mangifera indica* L. o con los metabolitos secundarios aislados de *Mangifera indica* L.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ajila, C., Naidu, K., Bhat, S., & Rao, U. (2007). Bioactive compounds and antioxidant potential of mango peel extract. *Food Chemistry*, 105(3), 982–988. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.052>
- Aldaba-Muruato, L., Moreno, M., Shibayama, M., Tsutsumi, V., & Muriel, P. (2012). Protective effects of allopurinol against acute liver damage and cirrhosis induced by carbon tetrachloride: Modulation of NF- κ B, cytokine production and oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1820(2), 65–75. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2011.09.018>
- Alsheblak, M. M., Elsherbiny, N. M., El-Karef, A., & El-Shishtawy, M. M. (2016). Protective effects of L-carnosine on CCl₄ -induced hepatic injury in rats. *European Cytokine Network*, 27(1), 6–15. <https://doi.org/10.1684/ecn.2016.0372>
- Anónimo. (2017). *Diccionario de Especialidades Farmacéuticas*. (PLM, Ed.) (63 ed.). México.
- Arrazola, G., Rojanoo, B., & Díaz, A. (2013). Capacidad antioxidante de cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) y evaluación de su comportamiento en una matriz alimentaria. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*, 7(2), 161–172.
- Arroyo, J., Almora, Y., Quino, M., Raez, E., Martínez, J., Buendía, J., ... Hañari, R. (2012). Efecto protector en cirrosis hepática inducida en ratas del extracto etanólico de las hojas de *Piper aduncum* comparado con silimarina. *Anales de La Facultad de Medicina*, 73(2), 85–91. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832012000200002
- Ayala-Zavala, J., Rosas-Domínguez, C., Vega-Vega, V., & González-Aguilar, G. (2010). Antioxidant enrichment and antimicrobial protection of fresh-cut fruits using their own byproducts: looking for integral exploitation. *Journal of Food Science*, 75(8), R175-81. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01792.x>
- Berardini, N., Knödler, M., Schieber, A., & Carle, R. (2005). Utilization of mango

- peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 6(4), 442–452. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2005.06.004>
- Bouayed, J., & Bohn, T. (2010). Exogenous Antioxidants—Double-Edged Swords in Cellular Redox State: Health Beneficial Effects at Physiologic Doses versus Deleterious Effects at High Doses. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(4), 228–237. <https://doi.org/10.4161/oxim.3.4.12858>
- Caballero, J. (2014). *Efecto hepatoprotector de la almendra de semillas de Cucurbita maxima (zapallo macre) en ratas*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos: Tesis de licenciatura en Nutrición. Retrieved from http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/cybertesis/3946/Caballero_cj.pdf
- Calva, J. (2008). Estudios clínicos experimentales. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, 46(1), 14. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223218855009>
- Campo, G., Squadrito, F., Ceccarelli, S., Calò, M., Avenoso, A., Campo, S., ... Altavilla, D. (2001). Reduction of carbon tetrachloride-induced rat liver injury by IRFI 042, a novel dual vitamin E-like antioxidant. *Free Radical Research*, 34(4), 379–393. <https://doi.org/10.1080/10715760100300321>
- Carrasco, F., Cortes, J., & Jimenez, M. (2013). Diferentes tipos de estudios epidemiológicos: ventajas e inconvenientes. *Cardiocyte*, 48(4), 133–135. <https://doi.org/10.1016/j.carcor.2013.09.004>
- Cho, Y., Yun, J., Park, J., Kim, H., Park, D., Sohn, C., ... Park, C. (2009). Deleterious effects of silymarin on the expression of genes controlling endothelial nitric oxide synthase activity in carbon tetrachloride-treated rat livers. *Life Sciences*, 85(7–8), 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2009.06.001>
- Clawson, G. A. (1989). Mechanisms of carbon tetrachloride hepatotoxicity. *Pathology and Immunopathology Research*, 8(2), 104–112. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2662164>
- Cock, L., & León, C. (2014). Potencial agroindustrial de cáscaras de mango

- (*Mangifera indica*) variedades Keitt y Tommy Atkins Agro industrial potential of peels of mango (*Mangifera indica*) Keitt and Tommy Atkins. *Acta Agronómica*, 64(2), 110–115. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43579>
- Conforti, F., Loizzo, M., Statti, G., & Menichini, F. (2005). Comparative Radical Scavenging and Antidiabetic Activities of Methanolic Extract and Fractions from *Achillea ligustica* ALL. *Biol. Pharm. Bull.*, 28(9), 1791–1794.
- Corrales-Bernal, A., Urango, L., Rojano, B., & Maldonado, M. (2014). Efectos in vitro e in vivo de la pulpa de mango (*Mangifera indica* cv. Azúcar) en la carcinogénesis de colon. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 64(1), 16–23. Retrieved from http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222014000100003
- Cubero, F., & Nieto, N. (2006). Células de Kupffer y hepatopatía alcohólica. *Rev Esp Enferm Dig*, 98(6), 467–472. Retrieved from http://scielo.isciii.es/pdf/diges/v98n6/es_punto.pdf
- Fahmy, S., Amien, A., Abd-Elgleel, F., & Elaskalany, S. (2016). Antihepatotoxic efficacy of *Mangifera indica* L. polysaccharides against cyclophosphamide in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 244, 113–120. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.009>
- Farfán, G., & Cabezas, C. (2002). Mortalidad por enfermedades digestivas y hepatobiliares en el Perú, 1995-2000. *Revista de Gastroenterología Del Perú*, 22(4), 310–323. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1022-51292002000400007
- Fasoli, E., & Righetti, P. (2013). The peel and pulp of mango fruit: A proteomic samba. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1834(12), 2539–2545. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.09.004>
- Finkel, T. (1998). Oxygen radicals and signaling. *Current Opinion in Cell Biology*, 10(2), 248–253. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9561849>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2005). Statistical

- Database-Agriculture. Washington DC. Retrieved from <http://www.fao.org/faostat/en/#home>
- Fresh Plaza. (2012). World production of tropical fruit expected to increase in 2014. Retrieved April 5, 2018, from <http://www.freshplaza.com/article/101367/World-production-of-tropical-fruit-expected-to-increase-in-2014>
- Galisteo, M., Suárez, A., Montilla, M., Fernandez, M., Gil, A., Navarro, M., & Navarro, M. C. (2006). Protective effects of *Rosmarinus tomentosus* ethanol extract on thioacetamide-induced liver cirrhosis in rats. *Phytomedicine*, 13(1–2), 101–108. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2004.06.024>
- Gambini, J. (2008). *Efecto del estradiol y otros compuestos estrogénicos sobre la expresión de genes asociados a la longevidad*. Universidad de Valencia: Departamento de Fisiología, Valencia.
- García-Magaña, M., García, H., Bello-Pérez, L., Sáyago-Ayerdi, S., & De Oca, M. (2013). Functional Properties and Dietary Fiber Characterization of Mango Processing By-products (*Mangifera indica* L., cv Ataulfo and Tommy Atkins). *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(3), 254–258. <https://doi.org/10.1007/s11130-013-0364-y>
- Gil, C. (2015). *Efecto de bebidas a base de frutas tropicales colombianas sobre la cantidad de células inflamatorias, las mucinas intestinales y los cambios preneoplásicos y neoplásicos, en un modelo experimental de cáncer de colon*. Universidad de Antioquia. Retrieved from <http://bibliotecadigital.udea.edu.co/handle/10495/3529>
- Gonzales, D., & Santos, P. (2013). Hipertransaminasemia en Pediatría. *Bol Pediatr*, 53, 137–145. Retrieved from https://www.aepap.org/sites/default/files/hipertransaminasemia_asintomatic_ade.pdf
- Grundhöfer, P., Niemetz, R., Schilling, G., & Gross, G. (2001). Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. *Phytochemistry*, 57(6), 915–927. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11423141>
- Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1989). *Free Radicals in Biology and Medicine*.

Oxford University Press. (2da Ed.). Oxford, UK.

- Hodgson, E. (2004). *A Textbook of modern Toxicology* (3ra ed). New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. Retrieved from [https://murdercube.com/files/NBC/Chemical/A Textbook of Modern Toxicology.pdf](https://murdercube.com/files/NBC/Chemical/A%20Textbook%20of%20Modern%20Toxicology.pdf)
- Jiménez, M., Maceira, M., Martínez, S., Pérez, J., & Montero, T. (2013). Efecto de Noni C sobre el daño hepático inducido por tetracloruro de carbono en ratas. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(1), 92–99. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000100011
- Katalinic, V., Mozina, S., Generalic, I., Skroza, D., Ljubenkov, I., & Klancnik, A. (2013). Phenolic Profile, Antioxidant Capacity, and Antimicrobial Activity of Leaf Extracts from Six *Vitis vinifera* L. Varieties. *International Journal of Food Properties*, 16(1), 45–60. <https://doi.org/10.1080/10942912.2010.526274>
- Kaur, C., & Kapoor, H. C. (2008). Antioxidants in fruits and vegetables - the millennium's health. *International Journal of Food Science & Technology*, 36(7), 703–725. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.00513.x>
- Khalidi, A., & Zaki, S. (1969). The mode of action of carbon tetrachloride on *Fasciola hepatica*. *British Journal of Pharmacology*, 36(2), 253–256. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1969.tb09502.x>
- Khan, T., Sundin, A., Juhlin, C., Wilander, E., Öberg, K., & Eriksson, B. (2004). Vincristine, Cisplatin, Teniposide, and Cyclophosphamide Combination in the Treatment of Recurrent or Metastatic Adrenocortical Cancer. *Medical Oncology*, 21(2), 167–178. <https://doi.org/10.1385/MO:21:2:167>
- Klaunig, J., & Kamendulis, L. (2004). The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 44(1), 239–267. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121851>
- Konigsberg, M. (2008). *Radicales libres y estrés oxidativo: Aplicaciones médicas*. (Manual moderno, Ed.). México. Retrieved from <https://www.casadellibro.com/libro-radicales-libres-y-estres-oxidativo-aplicaciones-medicas/9789707293212/1211183>

- Kujawska, M., Jodynis-Liebert, J., Ewertowska, M., Adamska, T., Matlawska, I., & Bylka, W. (2007). Protective effect of *Aquilegia vulgaris* (L.) on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 45(8), 702–711. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17877147>
- Kuskoski, E., García, A., Troncoso, A., & Fett, R. (2006). Capacidad antioxidante (ORAC FL) de pulpas de frutos congelados. *Nutrire*, 31(1), 53–64. Retrieved from <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/67621>
- Larrey, D. (2000). Drug-induced liver diseases. *Journal of Hepatology*, 32(1 Suppl), 77–88. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10728796>
- Latha, U., Rajesh, M., & Latha, M. (1999). Hepatoprotective effect of an ayurvedic medicine. *Indian Drugs*, 36, 470–473.
- Li, L., Wang, S., Chen, J., Xie, J., Wu, H., Zhan, R., & Li, W. (2014). Major Antioxidants and In Vitro Antioxidant Capacity of Eleven Mango (*Mangifera Indica* L.) Cultivars. *International Journal of Food Properties*, 17(8), 1872–1887. <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.687798>
- Lowrey, K. (1981). Destruction of liver microsomal calcium pump activity by Carbon Tetrachloride and Bromotricloromethane. *Biochem Pharmacol*, 30, 135–140.
- Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., ... Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, 129(1), 102–107. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2011.03.015>
- Maldonado, O., Jiménez, E., Bernabé, M., Ceballos, G., & Méndez, E. (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. *Rev Med UV*, 10(2), 32–39.
- Manthey, J., & Perkins-Veazie, P. (2009). Influences of Harvest Date and Location on the Levels of β -Carotene, Ascorbic Acid, Total Phenols, the in Vitro Antioxidant Capacity, and Phenolic Profiles of Five Commercial Varieties of Mango (*Mangifera indica* L.). *Journal of Agricultural and Food*

- Chemistry*, 57(22), 10825–10830. <https://doi.org/10.1021/jf902606h>
- Marquardt, H. (1999). *Toxicology*. (H. Marquardt, S. Siegfried, R. McClellan, & F. Welsch, Eds.) (3ra ed). United States of America: Academic Press.
- Ministerio de Agricultura y Riego. (2012). *Norma Técnica Peruana: Mermelada de frutas. Métodos de ensayo 1ra edición. Reemplaza a la NTP203.108:1989*. Lima.
- Morena, G., & Martínez, J. (1999). Efecto hepatoprotector inducido por el flavonoide Astilbina frente a un modelo animal tratado con tetracloruro de carbono. *Rev Cubana Plant Med*, 1(4), 36–39.
- Moreno-Loaiza, O., & Paz-Aliaga, A. (2010). Efecto vasodilatador mediado por óxido nítrico el extracto hidroalcohólico de *Zea mays* L. (maíz morado) en anillos aórticos de rata. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 27(4), 527–531. Retrieved from <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v27n4/a06v27n4>
- Mudau, F., Mabusela, J., & Wonder, N. (2014). Proximate, chemical compositions and sulphur concentrations on quality of selected dried mango (*Mangifera indica* L.). Limpopo. Retrieved from [http://uir.unisa.ac.za/bitstream/handle/10500/10440/Mango paper%5B1%5D.pdf?sequence=1](http://uir.unisa.ac.za/bitstream/handle/10500/10440/Mango%20paper%5B1%5D.pdf?sequence=1)
- Muruganandan, S., Srinivasan, K., Gupta, S., Gupta, P. K., & Lal, J. (2005). Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(3), 497–501. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.12.010>
- Nielsen, A. (1990). *Efecto de la Silimarina, del extracto de Schizandra chinensis y del infuso de Haplopappus baylahuèn sobre cambios bioquímicos e histológicos inducidos por CCl4 en ratas*. Universidad de Chile: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas.
- Oettl, K., Stadlbauer, V., Petter, F., Greilberger, J., Putz-Bankuti, C., Hallström, S., ... Stauber, R. E. (2008). Oxidative damage of albumin in advanced liver disease. *Biochim Biophys Acta*, 1782(7–8), 469–473. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2008.04.002>
- Ogbe, R., Adoga, G., & Abu, A. (2010). Antianaemic potentials of some plant

- extracts on phenyl hydrazine-induced anaemia in rabbits. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(8), 680–684.
<https://doi.org/10.5897/JMPR09.487>
- Ojewole, J. (2005). Anti-inflammatory, analgesic and hypoglycaemic effects of *Mangifera indica* Linn. (Anacardiaceae) stem-bark aqueous extract. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 27(8), 547.
<https://doi.org/10.1358/mf.2005.27.8.928308>
- Olaleye, M., Adegboye, O., & Akindahunsi, A. (2006). Alchornea cordifolia extract protects wistar albino rats against acetaminophen-induced liver damage. *African Journal of Biotechnology*, 5(24), 2439–2445. Retrieved from <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/56042>
- Olivas-Aguirre, F. (2014). *Capacidad antioxidante, antiproliferativa y bioaccesibilidad de los compuestos fenólicos del mango (Mangifera indica L. var. "Ataulfo")*: Estudios in vitro. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.
- Organización Mundial de la Salud. (2010). *Ambientes de trabajo saludables: un modelo para la acción para empleadores, trabajadores, autoridades normativas y profesionales*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.
- Ortiz, E. (1988). *Evaluación en el tiempo de las lesiones hepática en intoxicación por tetracloruro de carbono*. Universidad Austral de Chile: Facultad de Filosofía y Humanidades.
- Palafox-Carlos, H., Yahia, E., & González-Aguilar, G. (2012). Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. *Food Chemistry*, 135(1), 105–111. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201400171300>
- Payer, J., Lai, E., & Davis, E. (1980). Confirmation of assignment of the Trichlomethyl radical spin adduct detected by spin trapping during C-13. Carbon Tetrachloride metabolism in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun*, 94, 1154.
- Phenol-Explorer. (2015). Database on Polyphenol Content in Foods. Retrieved

- April 5, 2018, from <http://phenol-explorer.eu/>
- Polyak, S., Morishima, C., Lohmann, V., Pal, S., Lee, D., Liu, Y., ... Oberlies, N. (2010). Identification of hepatoprotective flavonolignans from silymarin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(13), 5995–5999. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914009107>
- Recknagel, R. O., Glende, E. A., Dolak, J. A., & Waller, R. L. (1989). Mechanisms of carbon tetrachloride toxicity. *Pharmacology & Therapeutics*, 43(1), 139–154. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2675128>
- Rekka, E., & Kourounakis, P. (1991). Effect of hydroxyethyl rutosides and related compounds on lipid peroxidation and free radical scavenging activity. Some structural aspects. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 43(7), 486–491. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1682461>
- Repetto, M., & Repetto, G. (2009). *Toxicología fundamental*. (D. de Santos, Ed.) (4ta ed.). Sevilla. Retrieved from <http://www.editdiazdesantos.com/wwwdat/pdf/9788479788988.pdf>
- Robles-Sánchez, R., Islas-Osuna, M., Astiazarán-García, H., Vázquez-Ortiz, F., Martín-Belloso, O., Gorinstein, S., & González-Aguilar, G. (2009). Quality Index, Consumer Acceptability, Bioactive Compounds, and Antioxidant Activity of Fresh-Cut “Ataulfo” Mangoes (*Mangifera Indica* L.) as Affected by Low-Temperature Storage. *Journal of Food Science*, 74(3), S126–S134. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01104.x>
- Rocha, C., Bolognesi, V., Gaspari, J., Miguel, O., & Costa, C. (2012). Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em productos cárneos. *Ciencia Rural*, 42(8), 1510–1517.
- Rocha, S., Queiroz, J., Lopes, M., Campos, F., & Pinheiro, H. (2007). Antioxidant in Mango (*Mangifera indica* L.) Pulp. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(1), 13–17. <https://doi.org/10.1007/s11130-006-0035-3>
- Rodríguez, C., Rodríguez, J., Obregón, O., Rodríguez, M., Ordaz, C., & Acosta, J. (1994). Radicales libres: parte I, consideraciones químicas, bioquímicas y fisiopatológicas. *Rev Cardiol*, 4(5), 73–84.
- Rodríguez, G. (2001). Actividad Hepatoprotectora de las Tinturas de 2 Especies

- Vegetales del Género *Hypericum*. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 30(4), 241–244. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0138-65572001000400005
- Saller, R., Meier, R., & Brignoli, R. (2001). The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*, 61(14), 2035–2063. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11735632>
- Samaniego, E. (1999). *Fundamentos de Farmacología Médica*. (Editorial Universitaria, Ed.) (5ta ed). Quito: Universidad Central del Ecuador. Retrieved from http://biblioteca.unach.edu.ec/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=555
- Saxena, A., Bawa, A., & Raju, P. (2009). Phytochemical changes in fresh-cut jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) bulbs during modified atmosphere storage. *Food Chemistry*, 115(4), 1443–1449. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301613425>
- Schieber, A., Ullrich, W., & Carle, R. (2000). Characterization of polyphenols in mango puree concentrate by HPLC with diode array and mass spectrometric detection. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(2), 161–166. Retrieved from <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20003029739>
- Selema de la Morena, G., & Martínez Pérez, J. (1999). Efecto hepatoprotector inducido por el flavonoide astilbina frente a un modelo animal tratado con tetracloruro de carbono. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 4(1), 36–39. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961999000100010
- Setchell, K. (1998). Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68(6 Suppl), 1333S–1346S. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9848496>

- Sgro, C., Clinard, F., Ouazir, K., Chanay, H., Allard, C., Guilleminet, C., ... Hillon, P. (2002). Incidence of drug-induced hepatic injuries: A French population-based study. *Hepatology*, 36(2), 451–455. <https://doi.org/10.1053/jhep.2002.34857>
- Singh, A., Bhat, T., & Sharma, O. (2011). Clinical Biochemistry of Hepatotoxicity. *Journal of Clinical Toxicology* 2011 1:3, 1(3). <https://doi.org/10.4172/2161-0495.s4-001>
- Singh, M., Sasi, P., Gupta, V., Rai, G., Amarapurkar, D., & Wangikar, P. (2012). Protective effect of curcumin, silymarin and N-acetylcysteine on antitubercular drug-induced hepatotoxicity assessed in an in vitro model. *Human & Experimental Toxicology*, 31(8), 788–797. <https://doi.org/10.1177/0960327111433901>
- Sohal, R. (1993). The free radical hypothesis of aging: An appraisal of the current status. *Aging Clinical and Experimental Research*, 5(1), 3–17. <https://doi.org/10.1007/BF03324120>
- Taira, Y., & Redick, J. (1980). An immunohistochemical study on the localization and distribution of NADPH – Cytochrome C (P – 450) reductase in rat liver. *Molec Pharmacol*, 17, 374–381.
- Tejada, F. (2005). Hepatotoxicidad por Fármacos. *Revista Clínica de Medicina de Familia*, 3(3), 177–191. Retrieved from http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-695X2010000300006
- Toxicologia Data Network. (2017). Toxicologia. Retrieved July 17, 2018, from <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~NgxHTh:13>
- Troncoso, L., & Guija, E. (2013). Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. *Anales de La Facultad de Medicina*, 68(4), 333. <https://doi.org/10.15381/anales.v68i4.1199>
- Tsuda, T., Shiga, K., Ohshima, K., Kawakishi, S., & Osawa, T. (1996). Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Biochemical*

- Pharmacology*, 52(7), 1033–1039. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8831722>
- Turnes, J. (1994). Fuentes, Intracelulares de especies oxidantes en condiciones normales y patológicas. *Antioxidantes y Calidad de Vida*, (1), 16–19.
- Turpo, G. (2012). Hepatitis Viral y Vigilancia Epidemiológica. *Bol. Epidemiol.*, 21(12), 192–193.
- United States Department of Agriculture. (2015). Welcome to the USDA Food Composition Database. Retrieved April 5, 2018, from <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>
- Vailati, A., Aristial, L., Sozze, E., Milani, F., Inglese, V., & Galenda, P. (1993). Randomized open study of the dose- effect relationship of short course of IdB 1016 in patients with viral or alcohol hepatitis. *Fitoterapia*, 64, 219–231.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), 816–823. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.04.054>
- Venkateswaran, S., Pari, L., Viswanathan, P., & Menon, V. P. (1997). Protective effect of Livex, a herbal formulation against erythromycin estolate induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 57(3), 161–167. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(97\)00062-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(97)00062-7)
- Vilela, C., Santos, S., Oliveira, L., Camacho, J., Cordeiro, N., Freire, C., & Silvestre, A. (2013). The ripe pulp of *Mangifera indica* L.: A rich source of phytosterols and other lipophilic phytochemicals. *Food Research International*, 54(2), 1535–1540. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2013.09.017>
- Villaño, D., Fernández-Pachón, M., Moyá, M., Troncoso, A., & García-Parrilla, M. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230–235. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2006.03.050>
- Villanueva-Tiburcio, J., Condezo-Hoyos, L., & Asquiere, E. (2010). Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). *Ciência e Tecnologia de*

- Alimentos*, 30(supl.1), 151–160. Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/cta/v30s1/23.pdf>
- Villar, M., & Villavicencio, O. (2001). *Manual de fitoterapia*. Lima: EsSalud; Organización Panamericana de la Salud.
- Vitali, M., Ensabella, F., Stella, D., & Guidotti, M. (2006). Exposure to Organic Solvents among Handicraft Car Painters: A Pilot Study in Italy. *Industrial Health*, 44(2), 310–317. <https://doi.org/10.2486/indhealth.44.310>
- Wall-Medrano, A., Olivas-Aguirre, F., Velderrain-Rodríguez, G., González-Aguilar, A., De La Rosa, L., López-Díaz, J., & Álvarez-Parrilla, E. (2015). El mango: aspectos agroindustriales, valor nutricional/funcional y efectos en la salud. *Nutr Hosp.Nutr Hosp*, 3131(1), 67–7567. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.1.7701>
- Wang, G., Eriksson, L., Xia, L., Olsson, J., & Stål, P. (1999). Dietary iron overload inhibits carbon tetrachloride-induced promotion in chemical hepatocarcinogenesis: effects on cell proliferation, apoptosis, and antioxidation. *Journal of Hepatology*, 30(4), 689–698. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10207812>
- Wang, L., Cheng, D., Wang, H., Di, L., Zhou, X., Xu, T., ... Liu, Y. (2009). The hepatoprotective and antifibrotic effects of *Saururus chinensis* against carbon tetrachloride induced hepatic fibrosis in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(3), 487–491. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.009>
- Wang, T., Sun, N., Zhang, W., Li, H., Lu, G., Yuan, B., ... Zhang, C. (2008). Protective effects of dehydrocavidine on carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 117(2), 300–308. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.02.010>
- Williams, R. (1996). Classification, Etiology, and Considerations of Outcome in Acute Liver Failure. *Seminars in Liver Disease*, 16(04), 343–348. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1007247>

ANEXOS

Anexo 1. Posición taxonómica de *Mangifera indica* L. (mango) – Constancia

N° 045 - USM - 2017



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N°004 -USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto) recibida **Jahaira Del Rosario BAZALAR PALACIOS**, ha sido estudiada y clasificada como: ***Mangifera indica* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: ROSIDAE

ORDEN: SAPINDALES

FAMILIA: ANACARDIACEAE

GENERO: *Mangifera*

ESPECIE: *Mangifera indica* L.

Nombre vulgar: "Mango"

Determinado por: Mg. Asunción Cano

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Fecha, 20 de enero de 2017


Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



DDB

Anexo 2. Certificado Sanitario N° 008-2017, de buenas condiciones sanitarias de los animales de experimentación.

	<p>INSTITUTO NACIONAL DE SALUD CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLOGICOS COORDINACIÓN DE BIOTERIO</p>
<p>CERTIFICADO SANITARIO N° 008-2017</p>	
<p>Producto : Rata Albina Especie : <u>Rattus norvegicus</u></p>	<p>Lote N° : R – 01- 2017 Cantidad : 36</p>
<p>Cepa : Holtzman Peso : 180 a 220 gr.</p>	<p>Edad : 2 meses Sexo : Macho</p>
<p>G.R.. : 033765</p>	<p>Destino : Bazalar Palacios, Jahaira del Rosario</p>
<p>Lima : 12-01-2017</p>	
<p>El Médico Veterinario, que suscribe, Arturo Rosales Fernández. Coordinador de Bioterio Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.</p>	
<p>*Referencia : PR.T-CNPB-153, Procedimiento para el ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.</p>	
<p>Chorrillos, 12 de Enero del 2017 (Fecha de atención y emisión del certificado)</p>	
<p>NOTA : El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.</p>	 <p>..... M.V. Arturo Rosales Fernández C.M.V.P. 1586</p>